AGRONOMIA LUSITANA



ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL

PORTUGAL

VOL. 4 — N.º 3
1942

AGRONOMIA LUSITANA

VOL. 4 — N.º 3
1942



Estação Agronómica Nacional
PORTUGAL

Composição e impressão das Oficinas da
Tipografia Alcobacense, Lt. - Alcobaça

AZOTOBACTER NOS SOLOS DE ARNEIRO DA "QUINTA DA ALDEIA" EM SACAVÉM

POR *SARA MAIA DE LOUREIRO*
(ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL)

INTRODUÇÃO

O problema da fixação do azoto atmosférico foi dos primeiros fenómenos bioquímicos a interessar mundialmente. A atmosfera é a grande fonte de recuperação do azoto das terras; se não existissem no solo os organismos fixadores dêsse azoto atmosférico, nem a matéria orgânica nem os adubos artificiais seriam capazes de preencher as perdas sofridas em azoto pelas terras.

Dos microorganismos mais úteis, quanto ao azoto que fixam e põem à disposição da planta, citam-se a bactéria dos nódulos das raízes das Leguminosas e as bactérias não simbióticas como o *Clostridium pastorianum* e o *Azotobacter*.

De tôdas é, sem dúvida, a bactéria dos nódulos das raízes das Leguminosas aquela que mais enriquece a terra; no entanto, o azoto fornecido quer pelo Azotobacter quer pelo Clostridium, não é na maior parte das vezes para desprezar.

REVISÃO HISTÓRICA

A bactéria dos nódulos das raízes das Leguminosas foi o primeiro organismo fixador de azoto a ser estudado. Embora já no tempo dos romanos se soubesse que estas plantas valorizavam a terra em que eram cultivadas, só em 1881 BEIJERINCK isolou a bactéria responsável pela fixação do azoto nas Leguminosas.

Nos fins do século XIX (1893-1895) descobriu-se o primeiro organismo fixador de azoto não simbiótico, a que WINOGRADSKY chamou *Clostridium pastorianum*.

Recebido para publicação em Julho de 1942.

Os estudos sôbre o género *Azotobacter*, devem-se a BEIJERINCK, que em 1901 isolou as duas primeiras espécies: *Azotobacter chroococcum* e *Azotobacter agilis*. Dois anos mais tarde LIPMAN descreve uma espécie nova: *Az. vinelandii* e em 1904 uma outra a que chamou *Az. beijerinckii*, ambas isoladas do solo.

A quantidade de azoto fixado por estas espécies, é por vezes considerável, variando no entanto de espécie para espécie, com o tipo de solo, reacção, temperatura, arejamento, culturas. Tem-se encontrado *Azotobacter* numa grande variedade de solos, chegando mesmo a ser isolado de terras de elevada acidez — pH 3,6 — como provam os trabalhos de ALTSON feitos em 1936, com solos da Malaia.

* * *

Tem-se conseguido isolar *Azotobacter* de quási todos os solos estudados.

O presente trabalho, relata uma tentativa de isolamento do *Azotobacter* num terreno de Sacavém que, embora imprópriamente, é designado na região por «Arneiro».

MATERIAL E MÉTODOS

A área escolhida (9 hect.) compreende uma grande variedade de terras: terras com grande percentagem de areia, terras areno-argilosas, terras ácidas, terras neutras (B. Macedo).

Para o isolamento e identificação das espécies isoladas empregaram-se os métodos mais correntes. O meio de cultura usado foi o meio líquido de Ashby.

A profundidade escolhida para a tiragem das amostras foi de 15 cm., por se tratar dum microorganismo que necessita de oxigénio para viver, e para uma melhor interpretação dos resultados, cada amostra de terra compunha-se de 3 sub-amostras.

Para evitar erros devidos à armazenagem das terras, que traria condições de vida diferentes das naturais, procedeu-se à inoculação do meio logo após a chegada das amostras ao Laboratório. Para cada balão de Erlenmeyer de 300 cc. empregaram-se 25 cc. de meio líquido de Ashby e 1 grama de terra apròximadamente.

Tentou-se também a substituïção do $CaCO_3$ pelo $CaCl_2$ no

meio de Ashby para ver qual o comportamento das espécies isoladas perante êstes dois sais, visto ALTSON, em 1936, ter isolado uma espécie (?) de *Azotobacter* que só em presença do $CaCl_2$ era capaz de se desenvolver bem.

Como SKINNER aconselha num trabalho seu o emprêgo de dextrina para o isolamento do *Azotobacter*, experimentou-se também adicionar êste açúcar.

A temperatura de incubação foi de 28 °C., apròximadamente.

OBSERVAÇÕES

Passados quatro dias, começaram a aparecer os primeiros sintomas da presença do *Azotobacter* no meio: uma película mais ou menos fina à superfície do líquido com uma pigmentação que ia do amarelo claro ao castanho escuro. Algumas culturas apresentavam um depósito abundante, e isto verificou-se principalmente naquelas em que, conjuntamente com o *Azotobacter chroococcum*, parece terem-se isolado outras espécies como: *Azotobacter vinelandii* e *Azotobacter beijerinckii*.

De tôdas as amostras colhidas só não foi possível isolar *Azotobacter* nas amostras n.os 10 e 11 (ver quado I); nas restantes, a espécie mais comum foi o *Azotobacter chroococcum* de células em bastonete, curtas, isoladas, aos pares ou em grupos, contendo no interior pequenos grânulos. A pigmentação não é característica, visto ter variado do amarelo claro ao castanho escuro. A espécie de células isoladas, grandes, ovais ou elíticas identificámos como *Azotobacter beijerinckii* e a de células isoladas, elíticas, mas mais pequenas que a espécie anterior, como sendo o *Azotobacter vinelandii*.

As colónias em agar de Ashby apresentavam ao fim de uma semana quatro tipos distintos:

1.° Colónias arredondadas de 1 mm. de diâmetro, muito elevadas, de estrutura granular e com uma coloração castanha escura *(Az. chroococcum)*;

2.° Colónias de 2 a 3 mm. mucilaginosas, de margem radiada clara e de centro opaco um pouco mais escuro; pigmentação amarela clara *(Az. chroococcum)*;

3.° Colónias pequenas, transparentes e mais ou menos planas *(Az. vinelandii)*;

QUADRO I

Zonas	Amostra	pH.	Tip. de Az.	Densidade	Observações (1)	Culturas
E_2	1	6.5	Az. ch.	****	Terra areno-argilosa com algum ácido fosfórico, potassa suficiente e quási sem calcáreo.	Trigo
»	2	6.5	»	***		
»	3	7.0	»	****		
»	4	6.5	»	***		
F	5	7.0	»	****	Terras bastante arenosas com ácido fosfórico e potassa em quantidades medianas e muito pobres em calcáreo.	
»	6	6.5	»	****		
»	7	Perdeu-se				
»	8	6.5	Az. ch.	**		
G	9	6.5	Az. ch. Az. beij.	**	Terras muito arenosas; muito encharcadas ao sul (amostra 11) ácido fosfórico e calcáreo nulos, pobres em potassa.	Tremôço
»	10	5.5	—	—		
»	11	6.5	—	—		
»	12	6.5	Az. ch. Az. beij.	**		
H	13	6.5	Az. ch.	**	Terras muito arenosas; pobres em ácido fosfórico e calcáreo nulo.	Leguminosas
»	14	6.5	Az. ch. Az. vin.	**		
»	15	6.5	Az. ch.	*		
»	16	6.5	»	***		Terreno inculto
»	17	7.0	»	***	Calcáreo nulo.	
»	18	7.0	»	****		

Az. ch. — Az. chroococcum
Az. beij. — Az. beijerinkii
Az. vin. — Az. vinelandii

**** muito rica
*** rica
** medianamente rica
* pobre
— nula

(1) Resultados obtidos por Botelho de Macedo (1940).

4.º Colónias de 2 mm., de estrutura amorfa e sem pigmentação (*Az. beijerinckii?*).

Tanto o emprêgo do $CaCl_2$ como o da dextrina, não deram resultados satisfatórios.

CONCLUSÕES

O isolamento do *Azotobacter* foi possível tanto no caso das terras areno-argilosas como nas terras com maiores percentagens de argila; podendo-se mesmo dizer que, dum modo geral, a flora do *Azotobacter* nos solos estudados é rica. A sua distribuïção não é porém uniforme, pois embora não tivesse havido a preocupação de empregar sempre quantidades exactas de inóculo, as diferenças nas densidades das culturas foram consideráveis (o que aliás era de prever devido à grande heterogeneidade das terras). Verificou-se uma maior riqueza dêstes organismos nas terras com percentagens mais elevadas de ácido fosfórico e potassa; enquanto que naquelas em que não foi possível dosear aquele ácido, o seu número diminuia muito (ver quadro I). Um dos factores que maior influência exerce na vida do *Azotobacter* é a acidez do solo, e assim se podem compreender os resultados negativos obtidos com a amostra n.º 10 representativa duma terra de pH. 5,5.

A colheita das amostras foi feita no mês de Março, a seguir a um período de grandes chuvas; o terreno encontrava-se tão encharcado nalguns pontos, que não foi possível isolar o *Azotobacter* (amostra n.º 11). A explicação da impossibilidade do isolamento parece encontrar-se na ausência dêstes microorganismos devido às más condições de arejamento nestes terrenos.

Além das razões já expostas para a explicação da distribuïção e ausência do *Azotobacter* na área estudada, existe mais uma outra que deve ser considerada ao tentar interpretar os resultados obtidos.

Se se examinar o quadro I, vê-se que a superfície do «Arneiro» se encontra diferentemente cultivada e que é justamente nas terras não cultivadas com Leguminosas que se observa uma maior densidade do *Azotobacter*.

Parece estar demonstrado num trabalho de YENSEN em 1940, que o *Azotobacter* não prevalece na rizosfera das plantas Legu-

minosas; no entanto, no nosso trabalho não podemos afirmar que seja essa a única causa da ausência do *Azotobacter* visto também existirem outros factores, já apontados, que explicam de certo modo os resultados obtidos.

SUMÁRIO

Dum modo geral, podemos dizer que a flora do *Azotobacter* dos solos estudados é rica. As amostras foram colhidas numa área com uma grande heterogeneidade e só não foi possível isolar o *Azotobacter* nas terras de acidez 5,5 e naquelas em que, por se encontrarem completamente encharcadas na altura das chuvas, as condições de arejamento eram deficientes.

Os resultados obtidos, mais uma vez provaram que a acidez e arejamento dos solos são os factores que primeiro devem ser considerados ao tentar explicar a vida do *Azotobacter* nas terras, assim como a quantidade de fósforo e potassio assimiláveis que muito contribuem para a vida dêstes microorganismos.

A espécie mais comum foi o *Azotobacter chroococcum* tendo-se isolado mais duas espécies que identificámos como *Azotobacter vinelandii* e *Azotobacter beijerinckii*.

SUMMARY

Generally speaking, we may say that the flora of *Azotobacter* of the soils studied, is rather rich. The samples were taken out of an area with a great heterogeneity of soils and it was not possible to isolate *Azotobacter* only in soils of pH 5,5 and in those which, due to their being completely soaked during the rains, did not present good conditions of aeration.

The results obtained prove once more that the reaction and aeration of the soils are the factors that ought to be considered first when trying to explain the life of *Azotobacter* in soils, as well as the quantity of phosphorus and potassium available which greatly contribute for the richness in these microorganisms.

The most common species isolated were *Azotobacter chroococcum*, two more species having been isolated which were identified as *Azotobacter vinelandii* and *Azotobacter beijerinckii*.

BIBLIOGRAFIA

ALTSON, R. A.
1936 Studies on Azotobacter in Malayan soils. *J. agric. Sci.* **26:** 268-280.

CHANG, H. W.
1940 Azotobacter in the soil of Manchuria (Report. I). *Rep. Inst. sci. Res. Manchuokuo.* **4**: 31-60.

MACEDO, M. B. DE
1940 Elementos para o projecto de exploração de uma propriedade agrícola. *Rev. Agron.* **28:** 333-447.

SKINNER, C. E.
1929 The use of dextrine in the isolation and identification of Azotobacter chroococcum. *Soil Sci.* **27:** 245-246.

YENSEN, H. L. and SWABY
1940 Further investigations on the nitrogen-fixing bacteria in soil. Ref. in *Biol. abstr.* **15:** 13075.

VARIAÇÕES CROMOSÓMICAS ESTRUTURAIS INDUZIDAS PELA CENTRIFUGAÇÃO

POR *A. CÂMARA*
(ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL)

1.

A produção artificial de variações estruturais nos cromosomas não só fornece indicações de largo alcance para o estudo da constituïção cromosómica, mas abre um novo caminho ao fabrico de variedades de plantas de interêsse na agricultura.

Enriquecer o material vivo, existente na Natureza, com novas mutações, com novos rearranjos cromosómicos, descobrir a forma de produzir umas e outros, à custa de simples tratamentos laboratoriais, constitui uma aspiração dos cientistas que se preocupam com o «melhoramento» das raças cultivadas. E assim os trabalhos têm-se sucedido, inventariando os agentes físicos e químicos capazes de induzir tais variações, procurando apreciar a intensidade dos seus efeitos, e tentando a comparação das suas eficácias relativas. Os raios X, o calor, os ultra-violetas e a colchicina são os que estão freqüentemente em causa; mas entre êles os raios X e a colchicina conquistaram o primeiro lugar. A razão desta preferência é que o primeiro agente é extrèmamente eficaz na produção de genovariações ou rearranjos e que o segundo deu já resultados de alto interêsse na indução de poliploidia.

Da centrifugação há ainda poucos estudos, relativamente. Sabe-se que se tem aludido à possibilidade de criar mutações génicas pela centrifugação e que se apontou também a sua eficácia como método de induzir variações cromosómicas.

KOSTOFF (1935, a, b, 1938), CÂMARA (1936, 1940) e SAEZ (1939) mostraram a produção de variações cromosómicas de natureza diversa. O primeiro, no seu último trabalho, efectuado sôbre centrifugação de sementes, menciona variações do tipo estrutural, além de outras quantitativas. Pelo nosso lado afirmámos que na

Recebido para publicação em Julho de 1942.

centrifugação de grãos de pólen se assiste a variações quantitativas, sendo destas as mais importantes as não-disjunções, e a variações estruturais, com formação de pontes anafásicas e conseqüente fragmentação.

Enfim, parece que se a centrifugação induz realmente condições estruturais, como translocações, inversões, intercâmbios segmentários, duplicações, e deficiências, os «melhoradores» passarão a dispôr de mais uma ferramenta.

Importa, contudo, encontrar mais confirmações e através delas chegar a conhecer a eficácia da centrifugação, relativamente a outros agentes mais conhecidos, como os raios X. Poderá suceder que o rendimento em roturas seja muito baixo e então pouco ou nada se ganhará em substituir, num Estabelecimento científico, o habitual tratamento da irradiação, pela centrifugação.

A necessidade de apurarmos elementos, que confrontem os efeitos da centrifugação com os dos raios X, aliada ao facto de querermos adquirir mais provas da variabilidade produzida por aquele agente, e de sabermos por quanto tempo é que os seus efeitos se fazem sentir, levaram-nos a realizar êste trabalho de que o presente relato é simples comunicação prévia.

2

O trabalho realizou-se sôbre cromosomas mitóticos de *Triticum monococcum* L. var. *vulgare* Körn. Centrifugaram-se sementes, recentemente germinadas, mantidas em água destilada, a velocidades de 2.500, 7.000 e 14.500 voltas por minuto ou seja, tendo em atenção os diâmetros da centrífuga, a 400, 3.500 e 15.000 vezes a fôrça da gravidade. Os tempos de tratamento variaram entre 30 minutos e 2 horas e as fixações das radículas executaram-se em períodos de 3, 6, 12 e 24 horas e depois diàriamente, sempre que foi possível, até 10 dias a seguir ao tratamento.

As fixações fizeram-se em Medium Flemming, Benda e Lewitsky 6:4, nalguns casos com imersão prévia em hidrato de cloral para melhor marcação de constrições. Em numerosas radículas adoptou-se a técnica da violeta de genciana de NEWTON, noutras a dos esfregaços de HEITZ.

As observações fizeram-se sôbre células que estavam alteradas, mas a nossa atenção prendeu-se sobretudo àquelas em que havia

manifestas translocações ou fragmentações, principalmente quando os cromosomas afectados eram os cromosomas SAT.

Conquanto os 7 cromosomas do *Triticum monococcum* sejam muito semelhantes, excepção dos dois SAT, pode ter-se uma ideia das suas diferenças por medições rigorosas (CÂMARA 1934, 1941). Quere dizer que, sempre se suspeitou duma translocação ou

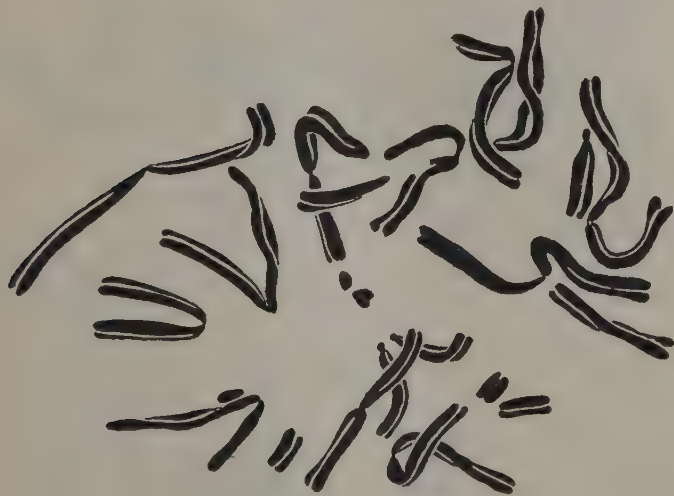


Fig. 1

fragmentação, elas não foram consideradas como tal senão depois de medições, não só dêsses cromosomas mas de todo o ideograma. Acrescentaremos que as cifras se corrigiram sempre de acôrdo com o factor de encurtamento verificado.

A centrifugação origina fragmentações dos cromosomas. As figuras 1, 2, 3, 4 e 5 apresentam alguns dos segmentos observados. Na fig. 1 vê-se uma fragmentação intensa. Alguns cromosomas partiram-se em vários pontos e outro perdeu uma certa extensão dum cromatídeo. Na fig. 2 vêm-se claramente: 3 cromosomas alterados C_1 — muito curto, C_2 — um braço muito longo de constrição terminal — e C_3 um cromosoma SAT com o braço excepcionalmente comprido; e 5 fragmentos de aspectos muito diversos, sendo três deles aparentemente resultantes de cortes junto dos centrómeros

(f_2, f_3 e f_4). Na fig. 3 repete-se sensìvelmente o mesmo aspecto: C_1, C_2, C_3 são três cromosomas alterados, claramente encurtados em qualquer dos braços, f_1 é um fragmento e f_2, um cromosoma cefalobraquial.

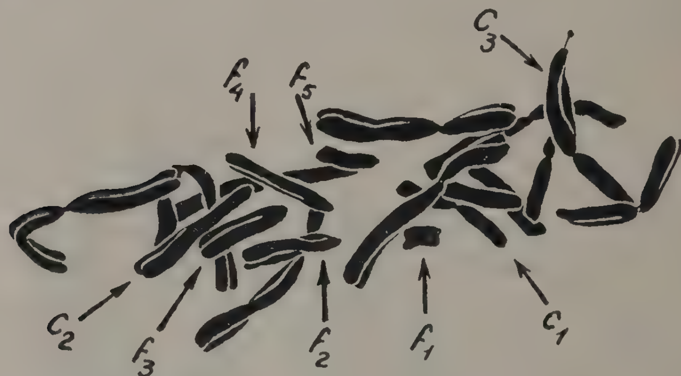


Fig. 2



Fig. 3

Na fig. 4 vêem-se duas deficiências e uma clara separação dos dois braços do mesmo cromosoma. Na fig. 5 vêem-se 4 fragmentos. Medidos êsses fragmentos e comparados com os comprimentos dos outros cromosomas, julga-se que as roturas se operaram da forma

Fig. 4



Fig. 5

apontada na figura: os fragmentos 2 e 4 pertencem ao mesmo cromosoma e 1 e 3 a outro, SAT.

As translocações são claramente evidentes, quando se operam sôbre os cromosomas SAT. Como se vê, na fig. 6, o cromosoma SAT 1 é mais curto em ambos os braços do que deveria ser e o

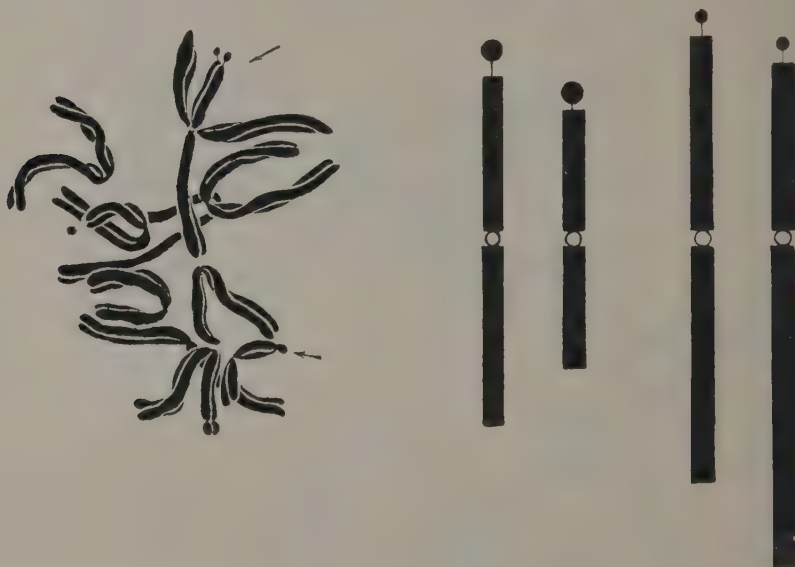


Fig. 6

SAT 2 bastante mais longo num braço e mais curto no outro.

Finalmente a fig. 7, em que os cromosomas se apresentam bem distribuídos, mostra variadas transformações que se enumeram da maneira seguinte: (1) no SAT 1 com encurtamento dum braço, (2, 3 e 5) com alongamentos dum braço, e (4) com encurtamento.

3

Escolheram-se apenas algumas células para mostrar efeitos da centrifugação na alteração dos cariotipos. Pode, porém, afirmar-se que o número de cromosomas modificados, por variações do tipo estrutural, foi considerável, embora bastante mais baixo que o observado após a irradiação, mesmo nas mais fracas dosagens estudadas.

O número de roturas, ajuïzado pela existência de fragmentos,

nas primeiras fixações, é relativamente freqüente. Êsse número diminui depois progressivamente com o decorrer do tempo. É evidente que ou se dá um processo de restauro dos cromosomas mutilados ou se perdem muitos dos fragmentos produzidos, o que é claramente confirmado pela circunstância do número de cromosomas translocados se elevar à medida que diminui o número de fragmentos.

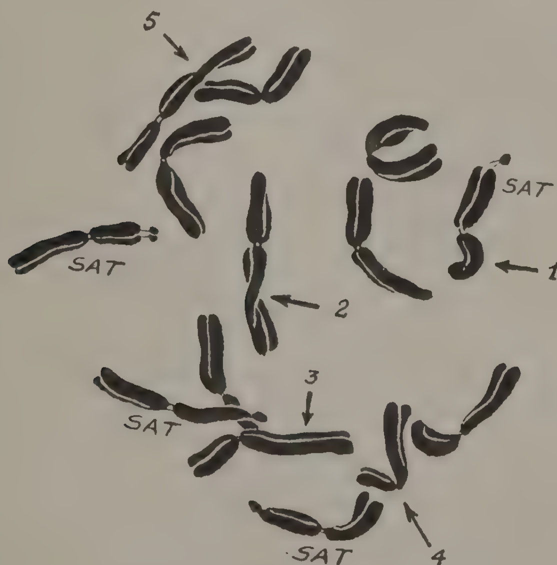


Fig. 7

O número de cromosomas dicêntricos é extraordinàriamente baixo. O número de pontes anafásicas nas células somáticas é muito mais baixo que o observado pelo autor em células germinais (CÂMARA, 1940).

Várias razões levam a supôr que a fase susceptível, para a realização de roturas, é a profase antecipada, ou o estado de repouso. Com efeito, ajuïzando pelo tempo que medeia entre o tratamento e a fixação, a fase em que se evidencia maior número de roturas é a da profase muito atrazada. Não se dá, porém, a soldadura imediata de cromatídeos parceiros, nos pontos onde haja o rompimento, tal como sucede nos tratamentos dos raios X,

dedução que é legitimada pelo facto de se não observarem, senão raramente, pontes anafásicas.

Decorrerá, possìvelmente, todo um ciclo celular sem que se dêem fusões, fazendo-se a síntese dos novos cromonemata quando se atingir o estado de repouso imediato. Há, por conseguinte, aqui, uma diferença de comportamento, que deve ser ponderada, em relação ao que se passa com os raios X.

A carência de pontes anafásicas, como resultantes de fusões de cromatídeos parceiros, impossibilita a determinação, em termos satisfatórios, da freqüência do número de roturas. Para obviar esta dificuldade, tentou-se outro método. Realmente, se fôsse sempre exacto que as fusões do material centrifugado se não podiam fazer logo depois das roturas, poderia ter-se uma ideia do número delas pelo número de fragmentos que se observassem nas metafases, logo após o tratamento. Com medições dos cromosomas visìvelmente encurtados e dos fragmentos obtidos, poderia então determinar-se, senão rigorosamente, pelo menos duma forma aproximada, o número de rompimentos verificados.

Claro que ainda é muito cêdo para aceitar como bom o critério seguido. À falta, porém, de outro mais satisfatório, chegámos às conclusões que se apontam na figura seguinte (fig. 8).

Com a centrifugação verifica-se, portanto, uma percentagem, relativamente elevada de células afectadas, com produção de fragmentos, dentro das primeiras 12 horas. O número decresce depois ràpidamente para o fim do primeiro dia, tornando-se daí em diante extremamente baixo, decerto por dar origem a mosaicos cromosómicos.

Quere dizer que a potência de soldadura só começa a agir a partir das primeiras 12 horas.

Na irradiação de cromosomas mitóticos as primeiras 3 horas, a seguir ao tratamento são aquelas em que se nota maior variabilidade. Para MARSHAK (1937) são as primeiras 2 a 3 horas, depois de tratamentos de raios X. Na irradiação da meiose, porém, segundo o mesmo autor, essa percentagem de anomalias prolonga-se por período muito superior, dumas 18 horas aproximadamente.

Sabe-se que muitos dos genetistas e citologistas que trabalham com raios X se inclinam para a existência de zonas críticas de rotura, como as heterocromáticas ou as vizinhas dos centrómeros

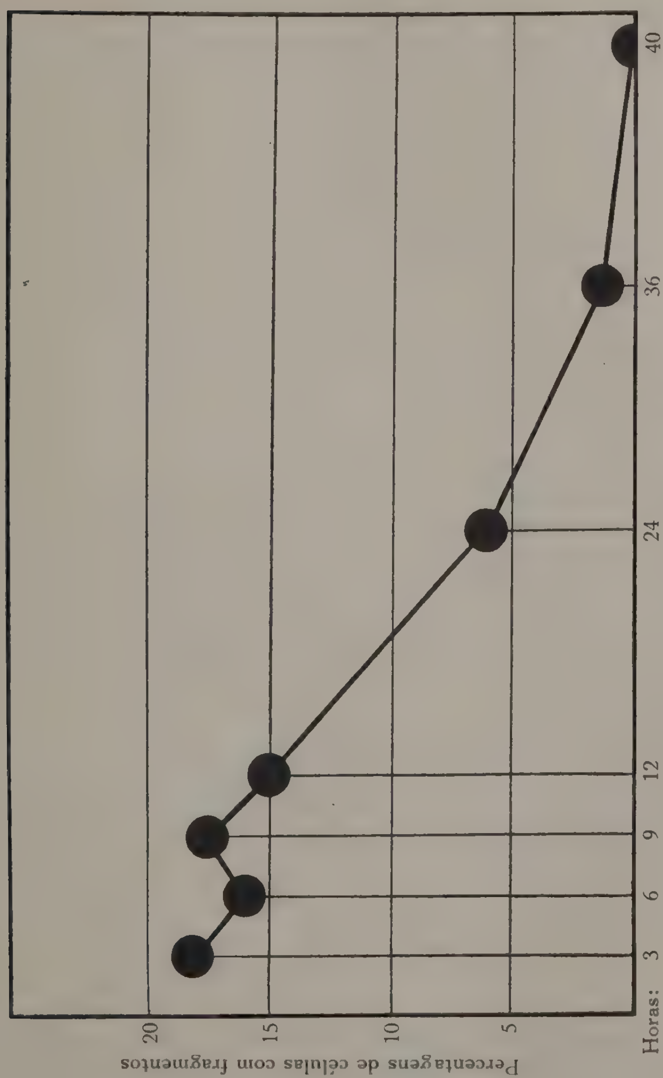

Percentagens de células com fragmentos
20
15
10
5
Horas: 3 6 9 12 24 36 40
Tempos decorridos após a centrifugação

Fig. 8

e telómeros. LEWITSKI e ARARATIAN (1933), CÂMARA (1935), MULLER e PROKOFYEVA (1935), LEWITSKY e SIZOVA (1935), MULLER e colaboradores (1937), BELGOVSKY e MULLER (1937), KAUFMANN (1939), CÂMARA (1939, 41), apresentaram variadas demonstrações de haver essa maior susceptibilidade.

O *Triticum monococcum* foi trabalhado especialmente por nós sob o ponto de fragmentação operada pelos raios X. Dêsses estudos concluímos que as zonas mais susceptíveis são na verdade as vizinhas dos centrómeros e dos telómeros (1941).

É difícil dizer o que se passa nas células centrifugadas àcêrca da vulnerabilidade de certas zonas. Conhecemos tão pouco sôbre o mecanismo das roturas criadas pela centrifugação que não nos podemos pronunciar ainda com rigor sôbre essas zonas de maior susceptibilidade.

Podemos conjecturar que a tensão mecânica do cromonema — forçada pela centrifugação — deverá quebrar as uniões químicas entre dois radicais amino-ácidos, dentro duma molécula de proteína, ou quebrar as ligações intramoleculares. Por outras palavras, segundo KOSTOFF, (1935, 37) as roturas dar-se-iam em conseqüência da diferença de pêsos específicos dos cromomeras; por êsse facto êles seriam solicitados diferentemente, enquanto uns se comportassem centrìfugamente, outros seriam centrípetos, e isso ocasionaria as roturas.

Examinados os fragmentos, parece que os rompimentos se dão ao acaso em variados pontos, e que, para a centrifugação, tôdas as zonas são susceptíveis. Há de facto muitos rompimentos junto dos centrómeros, mas também apareceram em número sensivelmente igual em outras zonas. Afigura-se-nos, portanto, que, sob êste ponto de vista da localização das roturas, também os efeitos da centrifugação são diferentes dos da irradiação.

4

Tem-se afirmado repetidamente — embora haja quem conteste — que o mecanismo dos rearranjos cromosómicos consiste primeiro em rompimentos dos cromosomas a que se seguem soldaduras.

As variações estruturais — excepção feita das deficiências terminais, — resultam de modificações persistentes nas ligações dos cromonemata, tendo as soldaduras de se efectuar forçosamente nos pontos exactos por onde se deram os cortes. Dêste facto, tem de

concluir-se que nenhum rearranjo cromosómico poderá fazer-se sem que obrigatòriamente se operem pelo menos dois rompimentos em um ou mais cromosomas.

Cada cromosoma afectado, encurtado ou alongado, como êsses que citámos, produzidos pela centrifugação, tem de traduzir pelo menos duas roturas.

As recombinações dos cromosomas cortados, e que, por êsse facto, adquiriram a potência da soldadura, quando sofreram decapitações recentes, fazem-se ao acaso, dependendo apenas das posições relativas em que se encontram.

A persistência de fragmentos, através de algum tempo, tem de traduzir não a falta de elementos próximos com que se fundam mas de qualquer circunstância especial que impeça a soldadura.

¿Poderá dizer-se que os rompimentos criados pela centrifugação são diferentes dos criados pelos raios X? Não nos parece, uma vez que MACCLINTOCK mostrou, nos seus estudos sôbre cromosomas do milho (1932, 38 e 1939), que, mesmo quando as roturas são de origem mecânica, estas precedem as fusões, mas que as fusões se operam tal como sucede no material irradiado. Demais o que se passa nos rompimentos, seguidos das fusões, é justamente o que ocorre universalmente no mecanismo de crossing-over, tal como é compreendido na actualidade pela maioria dos citogenetistas.

Parece-nos que nada se opõe a que admitamos que as roturas operadas pela centrifugação sejam semelhantes às realizadas pelos raios X. A única diferença notada é que ao centrifugarem-se os cromosomas se verifica uma inhibição de soldadura durante algum tempo.

Concluímos:

1.º — A centrifugação origina variações estruturais dos cromosomas;

2.º — O número de roturas é mais elevado nas primeiras 12 horas que seguem a centrifugação, diminuindo depois ràpidamente com o decorrer do tempo.

3.º — Não se provou que haja zonas de maior susceptibilidade à rotura operada pela centrifugação;

4.º — As fusões dos cromosomas não se dão logo a seguir à produção das roturas.

SUMMARY

In previous papers (KOSTOFF, 1935, 38, CÂMARA, 1936, 40, e SAEZ, 1941), references have already been made to structural variations being brought about by centrifuging. In the present paper it is attempted to give new support to that fact and also to compare the possible mode of operating of those rearrangements with that observed in breaking and fusing of chromosomes effected by X-rays.

The mitotic chromosomes of *Triticum monococcum* L., var. *vulgare* Körn., were subjected to centrifuging and studied.

It is concluded that:

1. — Centrifuging causes structural variations in the chromosomes.
2. — It is highest the number of breaks in first 12 hours following centrifuging, after which it decreases sharply.
3. — It has not been proved the existence of zones with higher degree of susceptibility to breaking as caused by centrifuging.
4. — Fusing of chromosomes does not follow immediately the production of breaks.

BIBLIOGRAFIA

BELGOVSKY, M. L. and MULLER, H. J.

1937 Further evidence of the prevalence of minute rearrangement and absence of simple breakage in and near chromocentral regions, and its bearing on the mechanisms of mosaicism and rearrangement. *Genetics* (1938 — Abstract): 139-140.

CÂMARA, A.

1934 Um estudo citológico do *Triticum monococcum* L. *Ann. Inst. Sup. Agron.* **6**: 5-36.

1935 a Efeitos dos raios X nos cromosomas do *Triticum monococcum*. Sua análise na apreciação da filogenia do trigo. *Ann. Inst. Sup. Agron.* **7**: 5-38.

1936 Estudo preliminar de variações cromosómicas induzidas pela centrifugação. *Rev. Agron.* **24**: 331-347.

1939 The effect of X-radiation on the chromosomes of *Aloë arborescens*. *Proc. VII Int. Gen. Cong.*: 83.

1940 A centrifugação fonte de variações cromosómicas. *Agron. Lusitana* **2** (2): 181-202.

1941 A fragmentação dos cromosomas pelos raios X no *Triticum monococcum* L. *Agron. Lusitana.* **3** (4): 341-359.

KAUFMANN, B. P.

1939 Distribution of induced breaks along the X-chromosome of Drosophila melanogaster. *Proc. VII Int. Gen. Cong.* : 172.

KOSTOFF, D.

1935 a Chromosome alterations by centrifuging (a preliminar report). *Zeits. Ind. Abst. Vererb.* **69** : 301-302.

1935 b Changes in karyotypes induced by centrifuging. *Compt. Rend. Acad. Sci.* URSS **2** (1) : 71-76.

1938 The effect of centrifuging upon the germinated seeds from various plants. *Citologia* **8** : 420-442.

LEWITSKY, G. and ARARATIAN, G. A.

1931 Transformations of chromosomes under the influence of X-rays. *Bull. appl. Bot.* **27** : 265-303.

LEWITSKY, G. and SIZOVA, M.

1935 Further studies on regularities in chromosome transformations in *Crepis capillaris* induced by X-rays. *C. R. Acad. Sci.* URSS **4** : 70-1.

McCLINTOCK, B.

1932 A correlation of ring-shaped chromosomes with variegation in *Zea mays*. *Proc. nat. Acad. Sci. Wash.* **18** : 677-81.

1938 The fusion of broken ends of sister haf-chromatids following chromatid breakage at meiotic anaphases. *Res. Bull. Mo. agric. exp. Sta.* **290** : 1-48.

1939 The behaviour in successive nuclear divisions of a chromosome broken at meiosis. *Proc. nat. Acad. Sci. Wash.* **25** : 405-16.

MARSHAK, H. J.

1937 The effect of X-rays on chromosomes in mitosis. *Proc. nat. Acad. Sci. Wash.* **23** : 362-9.

MULLER, H. J. and PROKOFYEVA, A. A.

1935 The structure of the chromonema of the inert region of the X-chromosome of Drosophila. *C. R. Acad. Sci.* URSS. N. S. **1** : 658-60.

MULLER, H. J. PROKOFYEVA-BELGOVSKAYA, A. A. and RAFFEL, D.

1937 The absence of transmissible chromosome fragments resulting from simple breakage, and their simulation as a result of compound breakage involving chromocentral regions (Abst.) *Genetics* **22** : 87-93.

SAEZ, A.

1939 Efectos de la centrifugación sobre las células sexuales de *Schistocerca paranensis*. *Proc. VII Int. Gen. Gong.* : 253.

ALGUMAS CONSIDERAÇÕES SÔBRE AS PLANTAS VASCULARES SUBESPONTÂNEAS EM PORTUGAL (1)

POR *A. R. PINTO DA SILVA*
(ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL)

1.

APENAS poucas regiões, naturalmente isoladas, poderão hoje apontar-se isentas de espécies vegetais estranhas à sua flora indígena. Em geral há que referir na composição de qualquer flora um número mais ou menos elevado de plantas que aí se estabeleceram nas condições mais diversas, em áreas mais ou menos vastas, no decorrer dos tempos.

O nosso País não pode decerto contar-se como uma daquelas regiões isoladas, e antes, parece disposto como um receptor natural pela sua posição geográfica e pelas características da sua vida que desde as Descobertas até hoje o mantêm em íntimo contacto económico, através dos mares, com os países mais diversos e longínquos.

São de facto numerosas as espécies exóticas que em maior ou menor grau se aclimaram no País.

Em 1920 num estudo comparativo entre as floras dos dois países ibéricos, PEREIRA COUTINHO mencionava uma lista de 35 espécies *claramente subespontâneas* no nosso País e não citadas em Espanha. Das 56 espécies subespontâneas em maior ou menor grau que se instalaram entre nós sem intervenção voluntária do homem, como adiante veremos, são conhecidas em Espanha em iguais condições apenas cêrca de metade daquele número. E se agora se fizer a comparação com o resto da Europa verifica-se que apenas 10 daquelas 56 parecem ser até hoje subespontâneas exclusivamente no nosso País: *Dicksonia culcita, Lycopodium cernuum, Kyllinga monocephala, Triglochin striata, Sesuvium portulacastrum, Sempervivum annuum, Hydrocotyle bonariensis, Soliva sessilis, Cryptos-*

(1) Comunicação apresentada ao I Congresso Nacional de Ciências Naturais. Lisboa, Junho de 1941.

temma calendulacea, *Erigeron diplopapoides*, sendo as restantes introduzidas ou espontâneas na Europa.

Com o presente trabalho pretendemos apenas averiguar, num exame de conjunto, donde provêm, como foram introduzidas, como se distribuem e até que ponto tais espécies afectam a nossa flora.

Trabalho exaustivo sôbre esta matéria só será possível depois de ter sido estudada pormenorizadamente cada caso de subespontaneidade para o que carecemos agora de muitos dos elementos necessários alguns dos quais talvez mesmo seja já impossível recolher.

2.

Os elementos principais foram obtidos dos trabalhos de PEREIRA COUTINHO e SAMPAIO e completados com referências de NYMAN, RICHTER, ASCHERSON e GRAEBNER, WILLKOMM, COLMEIRO, MAIRE, etc. visando a esclarecer a área geográfica das espécies, meios e época de introdução e áreas afectadas em condições de subespontaneidade. Consideraram-se também as referências feitas em diversos trabalhos críticos sôbre a flora portuguesa a novas plantas subespontâneas ou às já existentes.

Obtidas de uns e outros autores reüniram-se 224 referências de subespontaneidade das quais se mantiveram 198, pois as restantes 26 tomaram-se como espontâneas (1).

3.

MEIOS DE INTRODUÇÃO

São variados os meios porque as plantas podem ultrapassar os limites da sua área natural, emigrar e instalar-se numa região estranha.

(1) Foram consideradas espontâneas as seguintes espécies:

Pteris arguta Ait., *Dracunculus vulgaris* Schott., *Asparagus officinalis* L., *Salix fragilis* L., *Myrica Faya* Ait., *Ulmus carpinifolia* Gled., *Celtis australis* L., *Arceuthobium Oxycedri* DC., *Amaranthus retroflexus* L., *Amaranthus angustifolius* Lamk., *Aquilegia vulgaris* L., *Laurus nobilis* L., *Sempervivum tectorum* L. var. *glaucescens* (Welw.), *Cotoneaster Pyracantha* (L.) Spach, *Spartium junceum* L., *Melilotus indicus* (L.) All., *Psoralea polystachia* Poir., *Buxus sempervirens* L., *Zizyphus Lotus* Lamk., *Vitis vinifera* L., *Malva mauritiana* L., *Borago officinalis* L., *Vitex Agnus-castus* L., *Melissa officinalis* L., *Verbascum phlomoides* L., *Xanthium brasilicum* Vel.

Muitas vezes é o Homem o agente voluntário pois que as introduz para cultura e se a espécie se adapta à nova condição não raro passa a propagar-se e a expandir-se pelos seus próprios meios mesmo já quando a cultura que motivou a introdução caíu em desuso ou foi abandonada. Mas em outros casos não tem nisso o Homem interferência voluntária, e então pode o *meio* ou *veículo* ser de diversas naturezas, como por exemplo a lã, as embalagens, o lastro dos navios, as sementes de outras espécies de que constituem impurezas características ou casuais, enfim meios de migração para os quais as espécies muitas vezes se encontram admiràvelmente adaptadas.

Àparte as introduções por cultura, raros foram os casos em que encontrámos referência ao meio de introdução e esta teve por vezes lugar em tempos tão recuados e em condições tão diversas das de hoje que dificilmente se poderá determinar qual foi êsse meio.

Assim pareceu-nos ser a mais razoável a seguinte classificação das espécies notadas como subespontâneas, quanto ao meio de introdução:

A. *Plantas subespontâneas por intervenção voluntária do Homem (culturas: plantas alimentares, medicinais, ornamentais, etc.)*

1. Culturas actuais.
2. Culturas abandonadas ou desusadas.
3. Culturas nos Jardins Botânicos.

B. *Plantas subespontâneas sem a intervenção voluntária do Homem*

Dentro desta classificação as plantas subespontâneas em Portugal distribuem-se do modo seguinte:

			%
Plantas subespontâneas por cultura		142	72
1. Culturas actuais	100		
2. Culturas abandonadas	40		
3. Culturas nos Jardins Botânicos	2		
Plantas subespontâneas não por cultura		56	28

Verifica-se assim que as plantas subespontâneas por cultura são 2,5 vezes mais numerosas que as do segundo grupo..

Conhecem-se vários casos de subespontaneidade por interfe-

rência dos Jardins Botânicos, mas entre nós só há conhecimento de dois que se referem à *Anacharis canadensis*, hoje já perfeitamente naturalizada nos campos do Mondego e na Ria de Aveiro, e à *Securigera Securidaca* da qual, apesar de dita subespontânea na Beira Litoral, só vi referência a um especímene colhido por MOLLER na cêrca do Jardim Botânico de Coimbra.

Nos dois outros grupos de subespontâneas por cultura predominam as plantas ornamentais (57 %) e seguem-se as espécies agrícolas ou hortícolas (22-35 %) sendo as restantes plantas medicinais, condimentares, etc.

Das subespontâneas sem a intervenção voluntária do Homem vamos agora analisar diversos aspectos como sejam a origem, data de introdução, grau de subespontaneidade e sua distribuïção no país.

4.

ORIGEM

Donde nos chegam as espécies subespontâneas? Quais as regiões que as fornecem e constituem por assim dizer *centros indutores?* Por certo se pudessemos determinar e localizar tais centros indutores poderíamos dirigir as nossas precauções e prevenir-nos contra novas contaminações.

Acontece, por vezes, o centro indutor não estar na área geográfica própria mas ser uma região onde a espécie já se tinha estabelecido como subespontânea. Assim teria acontecido com a *Eclipta alba*, espécie americana subespontânea em Itália e Ásia Menor, donde depois nos teria chegado com sementes de arroz.

Não deixamos de considerar porém as áreas geográficas verdadeiras, ao que casos como aquele, por pouco numerosos, segundo nos parece, não afectam sensìvelmente.

As áreas geográficas próprias das subespontâneas sem a intervenção voluntária do Homem, distribuem-se do modo seguinte:

		%
Europa, Mediterrâneo e Ásia ocidental	10	18
Madeira, Canárias e Açores	2	4
Cabo da Bôa Esperança	3	5
Américas	36	64
Espécies de área vastíssima ou de origem mal conhecida	5	9

enquanto para as subespontâneas por cultura a distribuïção é:

		%
Europa, Mediterrâneo e Ásia ocidental	66	46
Madeira, Canárias e Açores	5	4
Cabo da Bôa Esperança	13	9
Américas	28	20
Ásia	19	13
África Tropical	1	1
Espécies de área vastíssima ou de origem mal conhecida	10	7

Verifica-se para o primeiro caso uma maior percentagem (64 %) de espécies americanas a que se segue a das europeias e mediterrânicas com 18 %. No segundo caso acontece precisamente o contrário e o valor mais alto pertence às espécies europeias e mediterrânicas (46 %), e aparecem 13 % de espécies asiáticas e 1 % de espécies tropical-africanas que no primeiro caso não se acham representadas. A percentagem de espécies capenses é também neste caso mais elevada (9 %). As restantes origens têm em ambos os casos valores baixos e próximos.

5.

DATA DE INTRODUÇÃO E GRAU DE SUBESPONTANEIDADE

Das 56 subespontâneas sem a intervenção voluntária do Homem, 30 % foram introduzidas nos últimos 26 anos (ao menos descobertas de então para cá). Para as restantes não conseguimos obter suficientes elementos de informação.

Igualmente precário é o conhecimento do grau de subespontaneidade. Já PEREIRA COUTINHO escrevia que «conviria indicar o modo e o grau da sua naturalização — se fugiram das culturas ou aparecem acidentalmente, se apenas são adventícias ou se já estão naturalizadas e com todos os caracteres de espontaneidade — mas, na falta de esclarecimentos precisos àcêrca de muitas, preferi deixá-las a tôdas sob a rúbrica vaga de plantas subespontâneas».

Com efeito, apenas nos é permitido concluir que daquelas 56 plantas quási um terço (18) são conhecidas de um único lugar ou área muito restrita e que neste número se incluem espécies introduzidas há bastante tempo como, por exemplo, *Hypericum atomarium*, *Convolvulus farinosus*, *Bidens leucanthus*, etc. que assim se verifica não terem alargado a sua área e é possível até terem desaparecido.

Outras há porém em franca expansão como a *Cryptostemma calendulacea*, *Bidens frondosus*, *Paspalum distichum*, etc.

6.

DISTRIBUÏÇÃO NO PAÍS

Por onde entram estas espécies no País? Quais as regiões mais afectadas?

Tentando dar uma interpretação razoável às por vezes tão vagas indicações sôbre a distribuïção destas espécies no País, construímos um mapa de distribuïções e, a partir dele, um outro que apresentamos, com as «linhas de igual número de subespontâneas» que, julgamos, darão uma idéia do modo como estão distribuídas no País.

Além das regiões do Minho, Douro Litoral, Trás-os-Montes, Beira Litoral, Beira Alta, Beira Baixa, Estremadura, Alto Alentejo, Alentejo Litoral, Baixas do Guadiana e Algarve, consideramos ainda como independentes das regiões respectivas, «Pôrto e arredores», «Foz do Mondego» (desde a Figueira da Foz até Coimbra) e «Lisboa e arredores» (abrangendo Sintra, Alfeite e Trafaria), para as quais encontrámos com freqüência referências que assim, devidamente localizadas, não foram mascarar os valores que competiam às regiões circunvizinhas.

A observação do mapa assim elaborado mostra que:

1) O número de subespontâneas decresce do litoral atlântico (desde o Pôrto até ao Algarve) para o interior.
2) A região de máxima intensidade é a de Lisboa e arredores; a Foz do Mondego apresenta ainda um número elevado de subespontâneas.
3) As regiões menos infestadas são as da Beira Alta e Trás-os-Montes com 7 e 5 espécies respectivamente.

Embora haja que considerar a parte interior como floristicamente menos explorada parece que tais conclusões devem manter-se.

Com efeito, a parte litoral deve estar mais infestada já porque por ela se estabelece o maior contacto com o exterior, através dos portos, já porque aí se encontram os maiores centros populacionais à volta dos quais é a cultura, dum modo geral, intensa e variada.

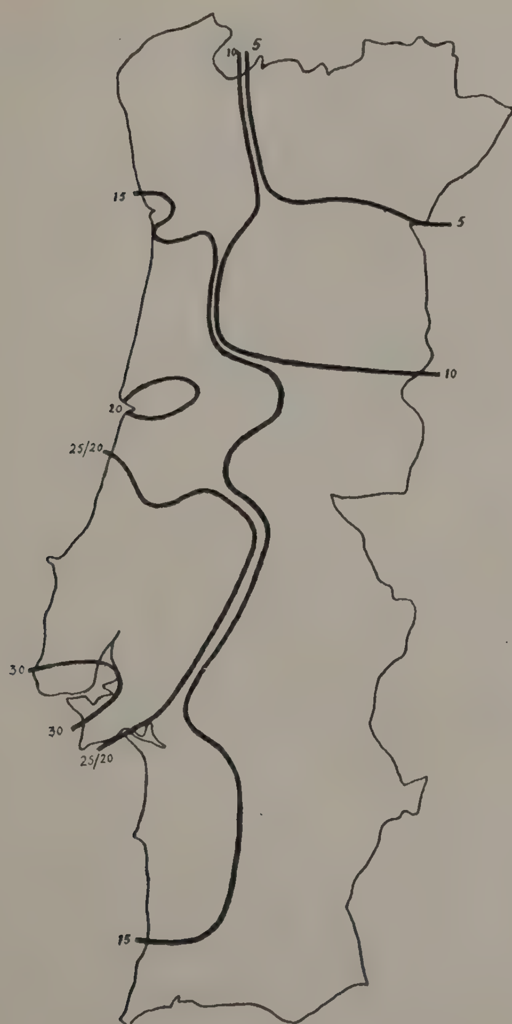


Fig. 1

7.

PREJUÍZOS DE ORDEM ECONÓMICA E DE LESA-NATUREZA CAUSADOS PELAS SUBESPONTÂNEAS

Finalmente não queremos deixar de referir o aparecimento de plantas daninhas entre as subespontâneas, cuja destruïção é por vezes um pesadelo, nem deixar de frisar os prejuízos de lesa-natureza que elas podem causar.

Da maior importância é assinalar o seu aparecimento, não só com intuitos especulativos mas para tentar cortar-lhe o passo e evitar o seu alastramento. Um verdadeiro «processo» deveria elaborar-se em cada caso, marcando lugares e datas de aparecimento, tentando descobrir qual foi a causa da sua introdução e os prejuízos que se lhe devem atribuir...

Se o aparecimento das plantas daninhas é mais provável entre as subespontâneas sem a intervenção voluntária do Homem, elas ocorrem também entre as espécies introduzidas por cultura e há neste grupo exemplos tanto ou mais vigorosos do que naquele, como sejam por exemplo: *Chenopodium ambrosioides, Oxalis cernua, Salpichroa rhomboidea, Polygonum orientale*, etc.

Muitas vezes são as plantas introduzidas com um propósito determinado, como teria acontecido com as *Oxalis*, mas por aptidão das espécies e porque encontraram convenientes condições de meio, saíram da cultura a que estavam destinadas (e que por sua vez caíu em desuso) e passaram a infestar com maior ou menor insistência as terras de cultura, chegando a imprimir caracter à vegetação que aí é própria.

Podem, é certo, dar-nos indicações preciosas sôbre as possibilidades do meio para a introdução de novas culturas mas não nos parece que tal compensação salde aqueles prejuízos.

Tem-se tecido louvores à bondade do nosso clima que permite que entre nós vegetem à vontade Piteiras, Opúncias e Chorões que se nos trazem algumas vantagens podem por vezes causar perdas de que só mais tarde nos aperceberemos.

Atente-se, por exemplo, no que está acontecendo no Cabo da Roca, precioso solar de endemismos. Aí prospera agora o tal chorão (*Mesembrianthemum edule*) revestindo impiedosamente uma bôa parte daquela limitada área.

Nem o rochedo da Berlenga escapou a estas plantas intrusas

e o bonito malmequer do Cabo *(Cryptostemma calendulacea)* já aí prospera vai em meio século...

É ao longo do litoral que se encontram alguns dos aspectos mais curiosos da nossa flora que a presença de subespontâneas, também aí mais freqüentes, pode vir a destruir ou modificar.

Por certo todos sentem pois a necessidade de lhes dar combate em defesa do nosso património florístico. E um dos caminhos a seguir é, sem dúvida, uma fiscalização rigorosísssima de tôdas as sementes importadas e o expurgo de mercadorias que se verifique servirem de veículo característico de determinadas pragas.

Não nos deve seduzir o ter sido primeiro conhecida nesta pátria adoptiva que na própria a pequena planta a que BROTERO chamou *Hippia stolonifera* nem que em certos meios, o bonito malmequer do Cabo chegasse a ser conhecido por *Cryptostemma lusitanica*...

SUMMARY

Research work was carried on vascular plants living subspontaneously in Portugal. Their origin (peculiar geographic area), different modes of introduction, distribution and expansion in the portuguese flora were studied.

Most of the species cited by diverse authors as subspontaneous were found to be those which deserted the cultivated stock, or remains from plants no longer under cultivatiom.

Those which are not on the above conditions are, as a rule, adventitious plants introduced into the country through different ways, and having settled down in a more or less remote period.

Obviously, this last group was the one subjected to a more close analyses, so as to map out the distribution and location of establishment zones.

The usefulness of a detailed study of each particular case is stressed, as well as the necessity of a severe control of imported seeds, in order to avoid damages both economic and lese-nature.

O DESENVOLVIMENTO DA ESPIGA NAS PRIMEIRAS IDADES, COMO PROCESSO DE DISTINÇÃO DE FORMAS DE INVERNO E FORMAS DE PRIMAVERA, NA CEVADA

POR *JOÃO MARQUES DE ALMEIDA*
(ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL)

NA base dos conhecimentos actuais, sabe-se que o ciclo vegetativo das plantas pode dividir-se numa série de *«estados de desenvolvimento»*, nos quais certos factores externos desempenham um papel muito importante. Numa primeira fase, é a temperatura o factor determinante do desenvolvimento, à qual se segue outra em que a luz ocupa o papel principal. Estas duas primeiras fases, ou estados, foram denominados por LYSENKO como: *termo-estado* ou *fase de vernalização* e *foto-estado* ou *fase de fotoperiodismo.* Sabe-se ainda existirem outros factores capazes de alterar o decorrer do processo, cuja acção se faz sentir logo que terminam as duas primeiras fases. Entre êsses merece referência especial a relação Hidratos de Carbono/Azoto, de grande importância na floração das plantas vivazes.

Os trabalhos de GASSNER (1919), MAXIMOV e POJARKOWA (1925), MAXIMOV (1929 e 1934) e LYSENKO (1928 e 1932) permitiram formar um conhecimento perfeito da forma como decorre o termo-estado ou fase de vernalização. Assim, reconhece-se hoje ser necessário um certo período de baixas temperaturas, para que um verdadeiro trigo de inverno, ou cevada de inverno, possa completar o seu ciclo vegetativo, sem o que as plantas, embora cresçam, jàmais formarão espigas. Esta fase tem normalmente lugar logo nas primeiras idades das plantas. Sem esta fase se completar, não podem os outros factores do meio exercer a sua acção e conseqüentemente não podem iniciar-se os outros estados de desenvolvimento. Se a temperatura não é favorável, as plantas crescem vegetativamente sem que na sua constituïção interna se dê qualquer alteração capaz de lhes imprimir a capacidade de formar as espigas, ou as flores, até que, independentemente do estado de crescimento, a planta receba

Recebido para publicação em Julho de 1942

a dose de temperatura conveniente e o processo de floração se inicie. A série de estudos realizados até hoje, mostra a diversidade de comportamento das diferentes espécies, traduzida pela necessidade de temperaturas baixas durante a fase de vernalização para algumas espécies, a par de outras que requerem temperaturas elevadas.

Baseado nestes princípios, poude LYSENKO estabelecer uma técnica de trabalho, pelo emprêgo de temperaturas determinadas durante períodos variáveis logo após a germinação, à qual deu o nome de *Iarovisation*, termo que foi mais tarde latinizado como Vernalização. Para os cereais praganosos as temperaturas empregadas andam à volta de 0° C e o período de tratamento varia de 15 a 60 dias, conforme as variedades utilizadas. Para as espécies termofilas, os tratamentos são feitos com temperaturas altas, próximas de 25° C.

Logo que se tornou conhecida a teoria de LYSENKO, começaram a aparecer trabalhos àcêrca da vernalização que nem sempre confirmavam as afirmações daquele investigador. Se nalguns casos, se observava uma influência marcada da vernalização como processo de induzir precocidade, noutros, plantas vernalizadas e testemunhas apresentavam comportamento idêntico.

Daqui a divisão dos cientistas em dois grupos: os que negam a vernalização como processo generalizado a tôdas as plantas e os que, com LYSENKO, afirmam resultarem as diferenças observadas duma má técnica, filha da diversidade de comportamento das diferentes espécies e variedades, de que resulta ser necessário empregar temperaturas e períodos de tratamento determinados, variáveis de umas para outras.

Quanto a nós a questão põe-se doutro modo.

A fase de vernalização é ùnicamente uma das fases do desenvolvimento e como tal, se as fases que se lhe seguem não decorrerem em condições favoráveis, pode aquela operar-se nas melhores condições sem que, por isso, as plantas atinjam necessàriamente uma fase adiantada do desenvolvimento e completem precocemente o seu ciclo vegetativo. Quer dizer, se pertendermos avaliar os efeitos da vernalização, ùnicamente pela rapidez com que se completa o ciclo vegetativo e volume da colheita, corre-se o risco de se falsearem as conclusões por não ser possível distinguir separadamente os efeitos de cada um dos factores do meio e a forma como decorrem

as diversas fases do desenvolvimento. Mesmo que se controlem todos os factores externos e se faça variar apenas a temperatura, ninguem nos diz que se escolheram as condições mais favoráveis para a sucessão das fases do desenvolvimento, e que de facto seja, então, sòmente a temperatura o factor determinante do processo.

Nestas condições, a única solução para uma rigorosa determinação da influência dos factores externos que actuam no desenvolvimento, seria poder ajuízar-se de cada fase do desenvolvimento durante o decorrer do processo, antes de se iniciarem as fases que se lhe seguem.

Foi neste sentido que realizámos tôda uma série de ensaios que relatamos nesta primeira comunicação.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizámos no nosso estudo 4 variedades de cevada pertencentes à colecção do Departamento de Patologia da Estação Agronómica Nacional: a *Friedrichswerther Berg Winter-Gerste* N.º 4276 e o *Hordeum vulgare Speciale* N.º 4278, ambas cevadas de inverno, a *Hanna* N.º 4266 e a *Bolivia* N.º 4272, variedades de primavera.

As sementes foram postas a germinar em placas Petri, numa estufa com a temperatura constante de + 24° C. Ao fim de 4 dias, tôdas as sementes estavam germinadas. Para cada variedade foram feitas 5 placas, contendo cada uma delas 50 sementes.

A série destinada ao tratamento de vernalização foi colocada num frigorífico em que se manteve a temperatura a + 1° C. O tratamento teve a duração de 15 dias.

Tanto as plantas vernalizadas como as testemunhas foram depois montadas em tubos de vidro de bôca larga (30 mm.) contendo o meio de cultura seguinte:

Nitrato de Amónio	0,32 ‰
Fosfato monocálcico	0,10 ‰
Sulfato de potássio	0,20 ‰
Sulfato de magnésio	0,08 ‰
Percloreto de ferro 2 a 3 gotas de uma solução a	0,4 ‰

Os tubos, contendo 20 cc. da solução, foram revestidos interiormente com papel de filtro e as sementes já germinadas seguras dentro de tubos a meia altura, com tiras de papel de filtro. Em

cada tubo foram montadas 4 sementes. Todos os tubos foram envolvidos com papel negro afim de evitar o desenvolvimento de fungos.

A temperatura ambiente no laboratório variou entre + 14° a + 18° C.

Durante tôda a experiência procurou compensar-se a água evaporada do meio da cultura, com novas adições que restabelecessem o nível primitivo.

Passados 15 dias quando começava a aparecer a 2.ª fôlha, iniciámos a dissecação das plantas.

A dissecação era feita com agulhas de ponta e lanceoladas, sob a objectiva duma binocular Zeiss. O material preparado era cuidadosamente desenhado à vista.

Quando as plantas atingiram um mês, fizeram-se novas preparações e novos desenhos. Isto tanto para as plantas testemunhas como para as vernalizadas.

Não prosseguimos no estudo, com plantas mais velhas por supormos ter terminado a fase de vernalização que nos propuzemos estudar.

OBSERVAÇÕES

Um estudo completo do desenvolvimento morfológico da espiga da cevada foi feito por BONNET (1936) com o fim de estudar as diferenças no decorrer da diferenciação e crescimento, no desenvolvimento precoce da espiga. Segundo êste autor o processo normal do desenvolvimento da espiga pode ser descrito como se segue:

No estado de repouso o caule do embrião da cevada é composto pelo coleoptilo e a primeira fôlha, como estruturas maiores, a segunda e a terceira fôlhas iniciais, o ponto de crescimento e um pequeno botão na axila do coleoptilo. Inicialmente o ponto de crescimento é esférico e está em parte envolvido pela terceira fôlha inicial. A pouco e pouco, as fôlhas vão crescendo e ao longo do eixo aparecem fôlhas de todos os tamanhos, desde as completamente formadas até aos primórdios de fôlhas apenas distinguíveis como sulcos na base do ponto de crescimento. Nesta fase do desenvolvimento do eixo, o ponto de crescimento começa a alongar-se para se preparar para a diferenciação da espiga. O primeiro indício da diferenciação da espiga é o aparecimento de sulcos

duplos em lugar dos sulcos únicos que se notam primeiramente. A princípio, os sulcos são quási iguais mas o sulco de cima, de cada par, cresce mais ràpidamente para dar lugar à formação das espiguetas. O sulco de baixo de cada par, vem a constituir provàvelmente o entre-nó do ráquis, pois aparentemente tôdas as estruturas das espiguetas se formam do par de sulcos de cima.

A diferenciação continua e a pouco e pouco começam a desenhar-se as diferentes peças que constituem a espiga.

O decorrer dêste processo de diferenciação está estreitamente correlacionado com as condições do meio ambiente e tem o seu início logo nas primeiras idades das plantas. Quer dizer, algumas das transformações operadas devem efectuar-se durante o decorrer da fase de vernalização e antes que tenham logar as outras fases subseqüentes. Se assim fôr, deverão observar-se alterações no processo de diferenciação das espigas de plantas tratadas com baixas temperaturas em relação a plantas sujeitas a temperaturas normais de 15-18° C.

Na verdade, pudemos verificar diferenças sensíveis no comportamento de plantas de cevadas tratadas e testemunhas, e concluir que as variedades de inverno, tratadas com baixas temperaturas, se desenvolvem mais ràpidamente, atingindo mais cêdo um grau adiantado de diferenciação.

Na figura 1 apresentamos os desenhos obtidos para as plantas testemunhas e vernalizadas, em diferentes idades.

Na linha A, os esquemas I e II representam os estados de desenvolvimento das duas cevadas de inverno N.os 4278 e 4276 e os esquemas III e IV as das cevadas de primavera N.os 4266 e 4272. Tôdas as plantas tinham 15 dias de idade e estiveram submetidas às condições normais do meio (Testemunhas). Para cada cevada foi feita uma dezena de preparações.

O simples exame dos esquemas mostra um maior desenvolvimento das duas cevadas de primavera e isto em tôdas as preparações realizadas, com excepção de uma única referente à cevada N.º 4266, nìtidamente atrazada, para o qual não encontrámos explicação. Em tôdas elas ainda não se iniciara a diferenciação da espiga.

Quinze dias depois, fizemos novas preparações cujos esquemas são dadas na linha B, estando as cevadas dispostas pela mesma ordem. Mantem-se o maior dosenvolvimento das cevadas de primavera. Neste momento já as cevadas de primavera apresentam as

espigas bem diferenciadas, enquanto nas cevadas de inverno a diferenciação está ùnicamente esboçada.

Quanto às plantas vernalizadas (linha C) observa-se precisamente o contrário. Aqui, são cevadas de inverno que se encontram mais desenvolvidas. As espigas estão já bastante diferenciadas e em estado de desenvolvimento muito mais adiantado do que nas

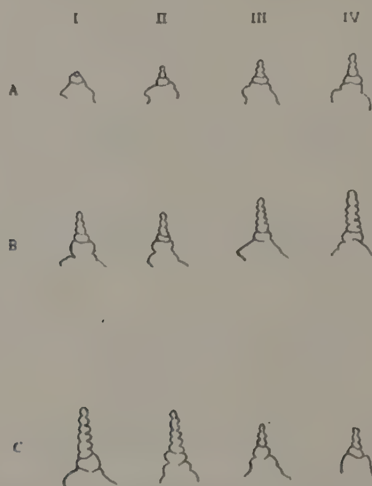


Fig. 1

cevadas de primavera vernalizadas e nas cevadas de inverno testemunhas.

Não resta dúvida pois, que no caso estudado a vernalização induziu uma dose de precocidade, marcada.

CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos, muito embora não possa concluir-se definitivamente a possibilidade de estudar a vernalização pelo exame da diferenciação da espiga da cevada, pois que se trabalhou com um número restricto de plantas e se ensaiou um único tratamento, êles mostram no entanto parecer ser possível avaliar da precocidade induzida pelos tratamentos térmicos, ainda no decorrer do processo de desenvolvimento, antes de se iniciarem as restantes fases capazes de camuflar os resultados experimentais. Na verdade, a

comparação do grau do desenvolvimento das cevadas de inverno vernalizadas e testemunhas, permite concluir ter-se operado um desenvolvimento precoce nas plantas tratadas que levou à diferenciação nítida da espiga nestas últimas.

Julgamos pois admissível, pelo estudo laboratorial da diferenciação da espiga nas primeiras idades das plantas, poder distinguir as formas de inverno das formas de primavera, bem como determinar quais os tratamentos de vernalização mais favoráveis para as diversas espécies e variedades.

Um trabalho mais profundo neste sentido terá de ser realizado afim de eliminar os últimos obstáculos a esta linha de estudo.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei dem Studium der Keimstimmung bestehen die grössten Schwierigkeiten, wenn diese Behandlung bezüglich der Vegetationsdauer und Höhe des Ertrages festgestellt wird, da der Verlauf der einzelnen Entwicklungsphasen sich nicht übersehen lässt.

In unserem Studium versuchen wir, den Einfluss der Keimstimmung auf Grund der Ährenbildung während der Temperaturphasen, in der andere Umweltfaktoren kaum eine Rolle spielen, zu studieren.

Die Beobachtungen wurden bei zwei Wintergerstesorten — Friedrichswerther Berg Nr. 4276 und *Hordeum vulgare Speciale* Nr. 4278, und zwei Sommergerstesorten — Hanna Nr. 4266 und Bolivia Nr. 4272, angestellt. Die behandelten Pflanzen wurden sofort nach der Keimung 15 Tage lang einer Temperatur von + + 1° C. ausgesetzt. Beobachtungen an dem Wachstumspunkt und an der Jungährenbildung zeigten, dass durch diese Behandlung eine Beschleunigung der Entwiklung bei den Wintergerstesorten erreicht wurde, während bei den Sommergerstesorten das Gegenteil der Fall war; d. h. bei der Gerste kann man auf diese Weise die Wintersorten von den Sommersorten leicht unterscheiden, und so die richtige Keimstimmungsbehandlung ermitteln, bevor andere Umweltsfaktoren die Entwicklung bewirken.

LITERATURA

ALMEIDA, J. MARQUES DE

1941 Bases fisiológicas para o melhoramento das plantas. *Revista Agronómica* **29** (4) : 433-449.

BONNET, O. T.

1935 The development of the barley spike. *J. of Agric. Res.* **51** (5) : 445-457.

LYSENKO, T. D.

1928 The influence of the thermal factor on the duration of the development phases in plants. *Trudy Azerbaidzan Op. Sta.* **3** pp. 168.

1932 Fundamental results of research on the vernalization of agricultural plants. *Bull. Jarov.* 4 : 1-57.

MAXIMOV, N. A. e POJARKOVA, A.

1925 On the physiological nature of winter and spring forms of cereals. *Trudy Prikl. Bot.* **14** (1): 211-234.

RUDORF, W.

1938 Genetische Grundlage der Entwicklungsphysiologie und ihre Bedeutung für die Züchtung. Handb. der Pflanzenzüchtung I. Band. *Verlag Paul Parey*, Berlin.

ELEMENTOS PARA O ESTUDO CITOLÓGICO DO GÉNERO *LUPINUS*

POR *NYDIA MALHEIROS*
(BOLSEIRA DO INSTITUTO PARA A ALTA CULTURA NA ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL)

1

OS estudos citológicos do género *Lupinus* permanecem, por enquanto, num estado muito atrasado, podendo mesmo dizer-se que os trabalhos publicados sôbre êste assunto muito poucos elementos nos podem prestar. A razão principal dêste trabalho não estar por ora mais esclarecido, reside naturalmente no facto do *Lupinus* ser um material francamente desfavorável para as observações citológicas; além dum número elevado de cromosomas, as dimensões dêstes vêm ainda aumentar as dificuldades de observação. Uma metafase favorável que proporcione fácil contagem e bôa observação morfológica, é caso bastante raro. Devemos ainda mencionar que êste material apresenta dificuldades para se proceder à coloração e diferenciação dos cromosomas, o que, conseqüentemente, ainda tornam mais escassas as possibilidades de uma bôa observação.

A literatura àcêrca do estudo citológico do género *Lupinus* é manifestamente pobre, tanto em número como em qualidade.

Poucos autores se têm dedicado à cariologia dos *Lupinus* e as referências feitas não vão mais longe que a contagem dos cromosomas, podendo-se apontar como excepção o trabalho de SAVCENKO (1935) que menciona a presença de constrições.

De SMET em 1914 (HACKBARTH, 1938), foi o primeiro autor que se dedicou às observações citológicas dos *Lupinus*, mas não adianta mais do que contar 40 cromosomas no *L. albus* L.

Mais tarde, WINGE em 1925 (HACKBARTH, 1938), estuda as constituïções cromosómicas dos *L. angustifolius* L. e *L. mutabilis* Sweet., para os quais nos relata ter encontrado respectivamente 40 e 48 cromosomas.

HEITZ e TISCHLER (1926), (HACKBARTH, 1938), determinaram 46 cromosomas para o *L. luteus* L. No mesmo ano, MILOVIDOW (1926)

(HACKBARTH, 1938) encontra 42 cromosomas para o *L. mutabilis* Sweet em vez de 48, como havia sido mencionado por WINGE (1926). Em 1930, KAWAKAMI (HACKBARTH, 1938), fala-nos do número de cromosomas dos *L. angustifolius* L. e *L. luteus* L., determinando para qualquer destas espécies 48 cromosomas. TSCHECHOW (1931), um ano mais tarde, diz ter o *L. varius* L. 48 cromosomas e o *L. Barkeri* Lindl. 50 cromosomas.

TUSCHNJAKOWA (1935) é o autor que maior extensão deu aos trabalhos citológicos sôbre *Lupinus*, se bem que não vá além da contagem de cromosomas. Segundo êste autor o *L. angustifolius* L. teria 40 cromosomas, o *L. luteus* L. 52, o *L. albus* L. 50, o *L. hirsutus* L. var. *micrantuus* Boiss. 50?, o *L. pilosus* L. 42, o *L. mutabilis* Sweet., *L. polyphyllus* Lindl., *L. nanus* Dougl., *L. densiflorus* Benth., *L. ornatus* Dougl., *L. micranthus* Dougl., *L. elegans* H. B., *L. venustus* Vilm., *L. pubescens* Benth., *L. Douglasii* Agardh., *L. suculentus* e *L. albococcineus* Hort. 48 cromosomas, o *L. Hartwegii* Lindl. 48 ou 50, o *L. subcarnosus* Hook. 36 e o *L. Barkeri* Lindl. 50.

Ainda no mesmo ano, um outro autor, SAVCENKO (1935), relata que o *L. angustifolius* L. e o *L. pilosus* L. têm 40 cromosomas, o *L. luteus* L. 52, o *L. albus* L., o *L. subcarnosus* Hook., o *L. varius* L., o *L. mutabilis* Sweet., o *L. polyphyllus* Lindl., o *L. arboreus* Sims., o *L. pubescens* Benth. e o *L. elegans* H. B. 48 cromosomas. Êste mesmo autor, o único que elucida sôbre a morfologia cromosómica, diz ter encontrado constrições medianas e cefalobraquiais nos cromosomas do *L. luteus* L. e *L. albus* L. e constrições cefalobraquiais em todos cromosomas do *L. angustifolius* L.

SENN, em 1938, estudando também o *L. albus* L., o *L. elegans* H. B. e o *L. pubescens* Benth. diz ter encontrado respectivamente 50 cromosomas para o primeiro e 48 para os dois últimos

2

O material sôbre o qual temos trabalhado abrange várias espécies de *Lupinus*, tais como, *L. albus* L., *L. angustifolius* L., *L. luteus* L., *L, Rothmaleri* Klink. (= *L. hispanicus* aut. lusit. non Bass. et Reut.) ou *L. varius* aut. lusit.?, *L. Cosentini* Guss. e *L. mutabilis* Sweet.

Ensaiámos vários fixadores como Navaschin, 2BE, Flemming (com e sem ácido acético), Craft, Benda, Lewitsky mas apenas com o



L. Cosentini Guss.
2n = 32



L. angustifolius L.
2n = 40



L. mutabilis Sweet.
2n = 48



L. albus L.
2n = 50



L. luteus L.
2n = 52



L. Rothmaleri Klink.
2n = 52

fixador Navaschin (mod. por Bruun) conseguimos resultados satisfatórios.

Por experiências determinamos que a melhor hora de fixação andava por volta das 10.30, visto ser esta a hora em que se encontravam maior número de divisões.

O corante empregado foi Violeta de Genciana seguindo a técnica de Newton e as lâminas foram montadas pelos processos habituais.

Por ter conhecimento, segundo TUSCHNJAKOWA (1935), que o material submetido ao frio durante 6 horas, apresentava condições favoráveis de observação, devido ao encurtamento e disposição dos cromosomas, experimentámos esta modalidade mas os resultados não corresponderam ao que se esperava. É muito provável que se produza o encurtamento dos cromosomas, o que facilita um tanto a contagem, mas em contra-partida torna difícil a observação morfológica. Ainda notámos que o tratamento pelo frio, impede em muitos casos a migração dos nucléolos de modo a persistirem até estados mais avançados da divisão celular e, sempre que ficam colocados por cima do complexo cromosómico, dificultam ou mesmo impossibilitam a contagem.

3

As determinações quanto à forma e número dos cromosomas das diferentes espécies de *Lupinus* por nós estudados, foram efectuados em metafases mitóticas.

Para o *L. albus* L. encontrámos 2n = 50, no *L. angustifolius* L. 2n = 40, no *L. luteus* L. 2n = 52, no *L. mutabilis* Sweet. 2n 48, no *L. Rothmaleri* Klink. 2n = 52 e no *L. Cosentini* Guss. 2n 32. Em qualquer destas espécies podemos observar cromosomas com constrições medianas e outros com constrições cefalóbraquiais.

4

Pelo que apontámos, se pode inferir que os resultados a que chegaram os diferentes autores que têm dedicado ao estudo citológico do género *Lupinus*, são por vezes bastante divergentes. Quanto ao *L. angustifolius* L., por exemplo, para alguns autores possui 40 cromosomas, enquanto para KAWAKAMI (1930) conteria 48.

No *L. albus* L., que nós saibamos, apenas cinco trabalhos se efectuaram e dêstes só três são concordes na determinação numé-

rica dos cromosomas. Outra tanto se poderia dizer para o *L. luteus* L. e *L. mutabilis* Sweet.

Já frisámos a grande dificuldade que existe na contagem dos cromosomas das diferentes espécies de *Lupinus*, uma vez que as dimensões e o número constituem obstáculos a uma observação favorável. Pode então pensar-se que será esta a razão principal que ocasiona as divergências dos resultados encontrados. Quando, porém, reparamos um pouco melhor nos números que são indicados pelos diferentes autores, quási que nos convencemos que estas discrepâncias não poderão ser exclusivamente atribuídas a êrros de observação. Não custa admitir que um citologista, ao contar os cromosomas de dada espécie, que como as referidas não se torna trabalho fácil, se engane e lhe escapem alguns cromosomas na sua contagem. Já não se percebe muito bem, que uma espécie possuindo 40 cromosomas, seja identificada por um autor como tendo 48. Era preciso que êste contasse duas vezes quatro cromosomas, o que não é de esperar, para ser induzido a semelhante êrro. Mais fácil é supôr que o material que tem sido estudado pelos diferentes autores, embora com o mesmo nome, não pertença de facto à mesma espécie. Se assim é, poderiam ficar explicadas algumas divergências que existem quanto à constituïção cromosómica em certas espécies de *Lupinus*, nomeadamente *L. angustifolius* L. e *L. albus* L.

O mesmo não dizemos quanto à morfologia dos cromosomas. Aqui muito mais fàcilmente pode escapar a observação das constrições, uma vez que esta observação não depende enclusivamente do observador mas é altamente facilitada pela preparação do material. SAVCENKO (1935), por exemplo, encontrou no *L. angustifolius* L. apenas constrições cefalobraquiais, quando afinal existem cromosomas que possuem constrições medianas.

Da literatura citada pode pois admitir-se (o que está de acôrdo com as nossas observações) que o *L. angustifolius* L. terá 40 cromosomas, o *L. albus* L. 50, o *L. luteus* L. 52 e o *L. mutabilis* Sweet 48, pois que são números idênticos encontrados por vários autores.

Quanto à morfologia cromosómica, condizem as nossas observações com as de SAVCENKO (1935) quando êste citologista diz ter o *L. albus* L. e o *L. lutenus* L. constrições medianas e cefalóbraquiais. Para o *L. angustifolius* L. SAVCENKO (1935) encontra apenas cons-

trições cefalobraquiais mas nós observamos também constrições medianas.

Os resultados que encontrámos para o *L. Cosentini* Guss. e *L. Rothmaleri* Klink. não podem ser discutidos uma vez que as nossas observações foram as primeiras que se fizeram nas referidas espécies.

SUMMARY

In the present paper there are mentioned the disagreements among several cytologists as regards the garniture of some species of *Lupinus*. Such disagreements can by accounted for the difficulties met with in the observation of the material. The following counts were made on: *L. albus* L., 2n = 50; *L. angustifolius* L., 2n = 40; *L. lutens* L., 2n = 52; *L. mutabilis* Sweet., 2n = 48; *L. Rothmaleri* Klink., 2n = 52, and *L. Consentini* Guss., 2n = 32.

The chromosomic garnitures given for the first four species agree with those found by cytologists as Winge, Tuschnjakova, Savcenko, Sen, etc. The counts made on *L. Rothmaleri* Klink. and *L. Consentini* Guss. cannot be discussed as no other counts for those species are known.

The knowledge of the morphology of certain chromosomic types has advanced, though not so far as to make possible to build the phylogenetic relation of the studied species.

BIBLIOGRAFIA

HACKBARTH, I

1938 Cytologie und Vererbung bei den Lupinenarten. *Der Zuchter* **10** : 34-40.

SAVCENKO, P. F.

1935 Karyology of some species of the genus *Lupinus*. *Bull. Appl. Bot., Genet and Plant-Breed.* **8** : 105-111.

SENN, H. A.

1935 Chromosome number relationships in the *Leguminosae*. *Bibliogr. Genet.* **2** : 175-336.

TSCHECHOW, W.

1931 Karyologich-Systematische Untersuchung des Tribus *Sophoreae, Podolariae und Genisteae. Mitt. der Tomsk Abt der Russ. Bot. Ges.* **3** : 121-131.

TUSCHNJAKOWA, M.

1935 Uber die chromosomem einiger *Lupinus* Arten. *Der Zuchter* **7** : 169-174.

SÔBRE O DESENVOLVIMENTO DE EXOSTOSES E A EMISSÃO DE RAÍZES NOS CAULES DAS PLANTAS NOVAS DE *OLEA EUROPAEA* L.

POR *ACÚRCIO RODRIGUES* E *FRANCISCO JOSÉ DE ALMEIDA*
(ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL)

DOIS aspectos essenciais, complementares, podem os estudos do enraïzamento revestir: aquêle em que se procura estimular a produção de raízes adventícias, quer pela modificação das condições de meio num sentido favorável, quer pela acção de substâncias promotoras do enraïzamento, e um outro, inicial, que consiste na determinação de quais as partes ou órgãos da planta que pela sua estrutura anatómica, idade, etc., possuem melhores condições para enraïzar.

A tendência para produzir raízes adventícias é muito variável de espécie para espécie, manifestando-se em geral essa possibilidade, cu facilidade, em certas características morfológicas externamente aparentes nos troncos e ramos.

E a observação comparativa de tais características dá-nos as mais úteis indicações, permite registar analogias ou dissemelhanças, e, precisando e distinguindo, desfazer, por vezes, possíveis confusões.

Assim, interessando-nos agora, essencialmente, a formação de exostoses e de raízes nos caules das plantas novas de oliveira, achámos no entanto da maior conveniência apresentar um esbôço geral dos aspectos que pode revestir, nas diferentes espécies, a producão de raízes e de excrescências não patológicas.

Algumas formas ou variedades pertencentes aos géneros *Pirus*, *Cydonia*, etc., possuem *típicas excrescências radicíferas*, nas quais se observam agregados de raízes cujas pontas irrompem da superfície do ramo no sítio dos nós, inicialmente junto da inserção das fôlhas. Essas formações progridem depois para um e outro lado, até chegarem a abranger tôda a periferia do ramo.

Tais produções, que vulgarmente se designam por *burr-knots*

ou *cones radicíferos*, são garantia segura de um bom e rápido enraïzamento logo que se lhes proporcionem condições favoráveis.

Outras espécies, como sejam a olaia (*Cercis Siliquastrum* L.), o folhado (*Viburnum Tinus* L.), etc., apresentam *excrescências tìpicamente gemárias*, de localização também nodal.

Algumas vezes, porém, estas excrescências de origem gemária acusam a produção de numerosas raízes. Constituem exemplo dêste aspecto os mamilos originados no tronco da oliveira e do plátano, os quais, embora se iniciem pela diferenciação e desenvolvimento de gomos, têm a faculdade de produzir raízes sempre que as condições externas sejam favoráveis. Por vezes até, na própria árvore, as pontas das raízes mostram-se bastante salientes da casca dos mamilos.

Quando se colocam na terra, em condições convenientes, partes da planta que possuam as referidas excrescências, torna-se fácil o enraïzamento porque ou já se encontram raízes diferenciadas, ou elas vêm a diferenciar-se em virtude da natureza especial dêsses tecidos, com menor lenhificação e abundância de reservas.

Em muito diversas plantas pode ocorrer a produção de raízes sôbre os caules ou troncos sem que existam ou se constituam formações especiais. Dois aspectos diferentes há a considerar:

1.º — As raízes não atingem grande desenvolvimento, e então:

a) correspondem a uma condição normal, e persistem, assim, sôbre o ramo, recobertas de uma camada protectora resultante do desenvolvimento da felogene, que acompanha a saída das raízes. Os ramos tomam um aspecto eriçado, como se observa na maior parte das formas do género *Buxus* (fig. 1);

b) resultam de condições favoráveis especiais, não possuindo revestimento suberoso, ou tendo um revestimento muito precário, e são de vida efémera, em virtude da dessecação produzida pelo calor solar, como pode verificar-se na videira, nas pequenas plantas de oliveira mantidas na estufa, na figueira, etc..

2.º — As raízes, originadas na parte superior do tronco ou dos grossos ramos, tal como sucede por exemplo na *Ficus elas-*

tica Roxbg. (fig. 2), começam por se alongar muito, mantendo-se pendentes e ramificando-se em forma fasciculada.

Quando a raíz ou feixe de raízes atinge o solo, desenvolve-se subterrâneamente e, em virtude do engrossamento na sua parte aérea, constitui-se, no caso do feixe, um entrançado cada vez menos aparente, de que resulta uma forte coluna ligando o ramo ao solo, por vezes a grande distância do tronco principal — são as chamadas raízes colunares das *Ficus*.



Fig. 1 — Raízes aéreas no *Buxus sempervirens* L. (aprox.te tamanho natural)

Se as raízes, em vez de alcançarem o solo, chegam ao contacto com o tronco, fixam-se sôbre êle e acabam por se soldar. Então, com o engrossamento, essas raízes constituem ligações dos ramos ao tronco, ou formações sôbre o tronco, e apresentam-se solidárias com êle. Dêste modo, a partir de certa idade da árvore, o tronco e a própria sapata podem ser completamente recobertos de caprichosas formações de natureza radicular. Todavia, é necessário não as confundir com as *cordas*, que também se observam na *Ficus elastica*, mas que, embora de aspecto bastante semelhante, resultam ùnicamente de maior actividade cambial em determinadas faixas ao longo do tronco, e tem, por conseqüência, uma evolução radial centrífuga.

A formação de saliências longitudinais, bem marcadas, nos troncos, por virtude da diferente actividade do câmbio nos diversos sectores, constitui um fenómeno verificável em numerosíssimas espécies, das mais variadas famílias, e pertencentes tanto ao nosso habitat, como às regiões africanas, americanas ou asiáticas. Assim, temo-las observado, por exemplo, nos géneros *Celtis, Ceratonia, Citrus, Eryobotria, Ligustrum, Mioporum, Olea, Pirus, Prunus, Schinus, Taxus;* e nos jardins botânicos coloniais encontrámo-las, entre outras, nas seguintes espécies: *Agonis fle-*

xuosa L., *Casuarina torulosa* Dry., *Chorisia speciosa* St. H., *Citharexylum quadrangulare* Jacq., *Cocculus laurifolius* DC., *Ficus Benjamina* L., *Pandorea Ricasoliana* Baill., *Parrotia persica* C. A. Mey.

Estas saliências são, umas vezes, muitíssimo pronunciadas e largas, abrangendo grandes sectores do tronco, em cuja base, principalmente, elas se acentuam, como sucede no *Celtis australis* L.;



Fig. 2 — Raízes aéreas na *Ficus elastica* Roxbg.

outras vezes, mostram-se estreitas mas bem marcadas, e ordinàriamente com maior extensão, tal como se verifica no *Taxus baccata* L., *Parrotia persica* C. A. Mey e *Citharexylum quadrangulare* Jacq.. Na *Olea europaea* L., a formação das *cordas* pode ser muito rápida, pois tanto se originam na correspondência de uma raíz como na de algum ramo vigoroso que se haja desenvolvido, por exemplo, em virtude de uma poda enérgica. Dessa rápida evolução resultam condições particulares relativas à natureza dos tecidos, que, de certo modo, os tornam mais aptos para a diferenciação de raízes quando o órgão onde se encontram é enterrado como estaca e pôsto em condições favoráveis.

Mas, já na *Ceratonia Siliqua* L., cujas *cordas* apresentam muita semelhança com as da oliveira (NATIVIDADE-1941), não existe facili-

dade de enraïzamento por estaca, e a própria transplantação das árvores novas exige cuidados muito especiais.

Procurámos concretizar a diversidade de formas que apresenta a produção de excrescências, gomos e raízes sôbre os troncos e



Fig. 3 — Sapata da *Phytolacca dioica* L., mostrando mamilos gemários donde partem grossos ramos

ramos, convindo no entanto acentuar que se encontra na natureza uma multiplicidade de combinações e de aspectos os mais variados. Vão êles desde a *Phytolacca dioica* L. (fig. 3) — árvore de grande sapata sôbre a qual se produzem mamilos gemários, com fortes rebentos, que dão origem a grossos ramos, e não mostram tendência para a produção de raízes — até à *Ficus elastica* Roxbg. (fig. 2), essencialmente produtora de raízes aéreas, que podem, como se viu, revestir a forma fasciculada, e, posteriormente, de

colunas ou grossas e extensas formações solidárias com o tronco, isto além da formação de *cordas* e de mamilos principalmente na toiça e base do tronco.

* * *

Dentre as Angiospérmicas, aquelas que, normal ou acidentalmente, produzem formações radicíferas ou excrescências gemárias, são de fôlha caduca em disposição alterna os géneros: *Cercis, Cydonia, Morus, Pirus, Platanus, Populus, Prunus, Salix* e *Ulmus*, com três feixes foliares; e as espécies *Vitis europaea* L., com cinco a sete, e *Ficus carica* L., normalmente com sete a nove;

É de fôlha caduca em disposição oposta o género *Acer*, com três feixes foliares;

E têm fôlhas persistentes com disposição oposta os géneros: *Olea, Phillyrea* e *Buxus*, com um único feixe foliar, e o género *Viburnum*, com três feixes foliares.

As analogias das condições de vegetação e estruturais das plantas pertencentes ao último grupo, especialmente daquelas que possuem um só feixe, justificam o exame das suas particularidades anatómicas, o qual nos pode trazer algum esclarecimento sôbre as questões de propagação vegetativa na oliveira. Mau grado nosso, não pudemos estender êsse estudo a outros géneros da família das Oleáceas que apresentam grandes afinidades e analogias de organização com as plantas do género *Olea*, visto não se encontrarem representados no nosso País. Queremo-nos referir, por exemplo, aos géneros *Osmanthus* e *Forestiera*, o primeiro dos quais constituído por plantas de frutos carnudos e fôlhas persistentes, que, conforme REHDER (BAILEY-1941, pág. 2411) é «Sometimes united with Olea which differs chiefly in its valvate corolla-lobes.», a ponto de se confundirem, segundo o mesmo autor, o *Osmanthus fragrans* Lour. com a *Olea fragrans* Thunb, o *Osmanthus americanus* Bent. & Hook. com a *Olea americana* L., o *Osmanthus Aquifolium* Sieb. com a *Olea ilicifolia* Hassk., etc..

Da mesma forma, diz o citado autor pertencerem provàvelmente ao género *Phillyrea* as plantas classificadas como *Osmanthus latifolia* e *Osmanthus ligustrifolia*.

As analogias de estrutura entre os géneros *Olea* e *Forestiera* são apontadas por SAX & ABBE (1932) que escrevem (pág. 45): «Another natural group is formed by *Olea europaea* and *Forestiera*,

with their tick-walled, unenvenly thickened vessels which tend to occur uniformly in distinction groups of two or three throughout the growth ring.»

Do género *Ligustrum*, além do *L. vulgare* L., de fôlhas caducas, espontâneo no nosso País, cultiva-se apenas, em jardins e arruamentos, o *Ligustrum japonicum* Thunb., de fôlhas persistentes.

Mas, do próprio género *Olea*, estamos reduzidos a uma única espécie, a *O. europaea* L., com as suas duas variedades: *Oleaster* (Hoffgg. et Lk.), DC., e *sativa* (Hoffgg. et Lk.), DC. (COUTINHO - 1936), quando muitas outras deviam ser estudadas. CÂMARA (1902) refere mais 12 espécies e uma variedade de *O. europaea* L. — a *O. europaea verrucosa* Willd.; STONE (1924) aponta 4 outras espécies, uma das quais a *O. europaea* Thunb, que diz ser a *O. verrucosa* de Link.; e WIESNER (1928) cita ainda 5 espécies diferentes.

Tem o maior interêsse portanto, não só para o fim que agora nos preocupa, mas sobretudo para os estudos genéticos e de melhoramento, de incontestável valor, reünir ao material de que dispomos no continente, aquêle que existe noutros países ou regiões; e algum até se encontra nas nossas Ilhas e Províncias ultramarinas.

Em trabalho anterior, procedeu um dos autores ao estudo das exostoses e produção radicular nos caules das plantas novas de *Olea europaea* L.. Agora — e após a revisão sumária dos aspectos que a formação de excrescências e de raízes apresenta em diversas plantas, especialmente naquelas cuja organização estrutural mais se assemelha à do género *Olea* — procura-se ampliar as observações efectuadas, quer examinando o comportamento e evolução ulteriores do material já utilizado, quer pelo estudo de ramos mais novos, de que se começou por registar a evolução, desde a estrutura primária até ao completo desenvolvimento de mamilos.

Assim, analisou-se particularmente a derivação dos feixes das fôlhas e dos gomos; as zonas sectoriais do caule que, nos diversos níveis, lhes correspondem; a região nodal susceptível de sofrer o intumescimento que ocasiona o mamilo; a forma como as diferentes regiões contribuem para o engrossamento do ramo; e a localização das raízes diferenciadas nos caules novos, bem como a sua produção sôbre caules mais lenhificados, pertencentes a plantas com mamilos

ou sem mamilos, abaceladas na terra. Observou-se também a maneira como reagiram plantas possuindo mamilos, após o corte do caule acima dessas formações.

MATERIAL E MÉTODOS

O exame comparativo da capacidade manifestada pelas diversas espécies para a produção de excrescências e de raízes efectuou-se em material colhido ou observado nos seguintes locais: Claustros do Mosteiro de Santa Maria de Alcobaça; Mata Nacional do Vimeiro; vertente marítima da Serra da Arrábida; Tapada da Ajuda, Jardim da Estrêla, Jardim Botânico da Faculdade de Ciências e Jardim Colonial, de Lisboa; Quinta do Senhor da Serra, em Belas; Parque do Palácio Nacional de Queluz; e Parque da Pena, em Sintra.

Para o exame de particularidades estruturais neste material, recorreu-se quási sempre ao microscópio binocular de dissecção, utilizando-se por vezes o micrótomo de Ranvier.

As observações de morfologia externa e crescimento dos caules ou troncos de *Olea europaea* L. efectuaram-se sôbre as plantas referidas em trabalho anterior (ALMEIDA, 1942), as quais haviam sido retiradas das caixas onde se encontravam na estufa e colocadas em terra de viveiro.

A fim de se proceder ao estudo anatómico dos ramos muito novos, incluiu-se material em parafina, seccionou-se com espessuras entre 6 e 10 μ e corou-se pela safranina e hematoxilina de Delafield. No caso de mamilos ou tecidos mais lenhificados, seguiu-se o método da desmineralização pelo ácido fluorídrico e a inclusão em celoidina.

Os esquemas foram desenhados com o auxílio de uma câmara clara Zeiss, e as microfotografias obtidas num Citophot Busch.

OBSERVAÇÕES E DISCUSSÃO

Como anteriormente referimos, são de vegetação espontânea no nosso País algumas Angiospérmicas de fôlhas persistentes em disposição oposto-cruzada que, com maior ou menor freqüência, produzem excrescências gemárias ou emitem raízes aéreas. Assim, na família das Oleáceas, tribu *Oleas*, encontramos a *Olea euro-*

paea L., nas duas variedades *Oleaster* (Hoffgg. et Lk.), DC. e *sativa* (Hoffgg. et Lk.), DC., a *Phillyrea media* L. e a *Phillyrea latifolia* L.; na família das Buxáceas, o *Buxus sempervirens* L., e na família das Caprifoliáceas, a espécie *Viburnum Tinus* L..

As excrescências dos troncos e ramos, muito freqüentes na *O. europaea* L. (NATIVIDADE 1940) e no *Viburnum Tinus* L., aparecem



Fig. 4 — Exostoses na base de um tronco de *Buxus sempervirens* L.

menos vezes no género *Phillyrea*, e muito raramente no *Buxus sempervirens* L. (fig. 4). Nesta última espécie, o que se nota geralmente, nos ramos lenhificados, é uma grande profusão de raízes aéreas protegidas por súber, com aspecto muito característico (fig. 1). Uma vez cortados êsses ramos e colocados em solução nutritiva, originam, após a rotura da parte suberosa, terminal, das raízes preformadas, raízes muito finas, direitas e compridas.

A organização e estrutura dos ramos nas plantas referidas apresenta grandes analogias, sobretudo nos géneros *Phillyrea*, *Olea* e *Buxus*, todos com um só feixe foliar, como se referiu.

Entre os dois últimos géneros considerados — apesar de maior semelhança quanto ao tipo das fôlhas — algumas diferenças se

patenteiam no aspecto externo da ramificação, e isso devido à diferente consistência dos tecidos novos. Assim, enquanto que na *Olea europaea* L., e sobretudo na var. *Oleaster*, as extremidades dos ramos em crescimento e as fôlhas novas apresentam uma relativa consistência, de que resulta marcada rigidez na disposição oposto-cruzada das fôlhas (independentemente das diferenças localizadas de iluminação) e, mais tarde, por desenvolvimento dos gomos axilares, uma ramificação nìtidamente cruzada quando vista de tôpo (fig. 5—B); no *Buxus sempervirens* L., pelo contrário, os tecidos de formação recente são muito tenros, não possuindo a ramificação regularidade tão aparente.

Mas, uma vez os tecidos lenhificados, essas diferenças desaparecem, e assim vemos classificadas por STONE (1924) como extremamente duras, no mesmo grau, as madeiras de *Olea europaea* L. e de *Buxus sempervirens* L.. É interessante referir que, segundo o mesmo autor, no próprio género *Olea* o grau de dureza da madeira das diferentes espécies é bastante variável:

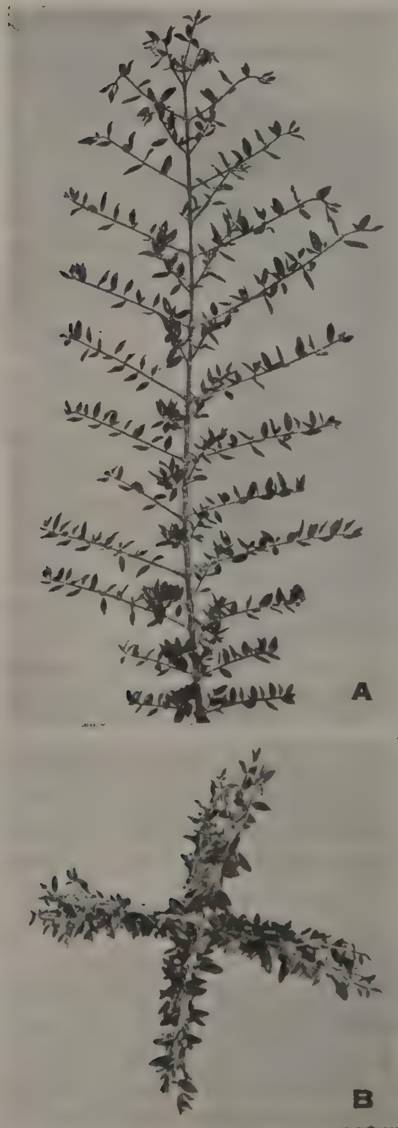


Fig. 5 — Disposição oposto-cruzada dos ramos de um caule de *Olea europaea* L. (aprox.te 1/6).
A — Aspecto de perfil
B — » » tôpo

a *O. laurifolia* Lam. tem um lenho extremamente duro, comparável ao do Ébano, enquanto que a *O. lanceolata* Hook. tem o lenho pouco duro, com um grau de dureza idêntico ao do Ulmeiro ou do Freixo.

MATHIEU (1877), referindo-se à *Olea europaea* L., diz (pág. 217) que «le bois est l'un des plus compactes et des plus homogènes que l'on connaisse...», e STONE (1924 - pág. 157) que «not easily confused with any other wood.»

As excrescências gemárias por nós observadas nas plantas novas de *Olea europaea* L., *Phillyrea media* L. e *Viburnum Tinus* L. apresentavam tôdas uma localização nodal, começando nas duas primeiras espécies por ligeiro intumescimento junto do gomo axilar normal, ou entre o ramo a que êle dá origem e o tronco (fig. 6), estendendo-se depois lateralmente até completo envolvimento dêsse ramo. Por êste modo se formaram 20 andares de mamilos, em disposição oposto-cruzada, sôbre o tronco de uma planta de 3 anos de idade, segregação de uma forma cultural *Branca* de *Olea europaea* L. (fig. 7). Devemos notar que outras plantas da mesma forma cultural, de porte semelhante, obtidas na mesma sementeira, cultivadas no mesmo terreno, não apresentavam a mais leve tendência para o desenvolvimento dessas formações.

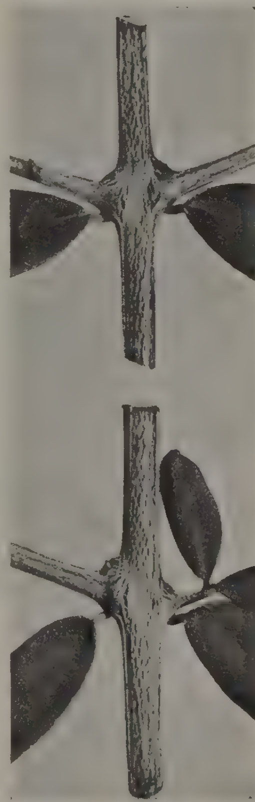


Fig. 6 — Primeiros estádios da formação de mamilos num caule de *Olea europaea* L. (ligeiramente ampliado)

Sujeitando as plantas a determinados tratamentos, podemos, até certo ponto, modificar a evolução natural das exostoses. Assim, na fig. 8 - A e B, mostram-se dois estádios da evolução de mamilos numa planta nova de *O. europaea* L., mas que em dada altura sofreu amputação do tronco logo acima das primeiras excrescências. No primeiro (fig. 8 - A), apresentado por ALMEIDA (1942 - fig. 24, Est. IX), iniciava-se a forma-

ção de dois mamilos nas axilas das fôlhas do primeiro nó acima do nível do solo, acompanhado cada mamilo pelo desenvolvimento lateral de uma raíz. Pelo corte do tronco 2 cm. acima do nó (fig. 8-B), um dos gomos normais evoluiu, produzindo um ramo vigoroso, ao mesmo tempo que a exostose se ampliava sobretudo na parte inferior do ramo; o outro gomo deu origem a um ligeiro raminho, e a intumescência que lhe correspondia não sofreu modificação.

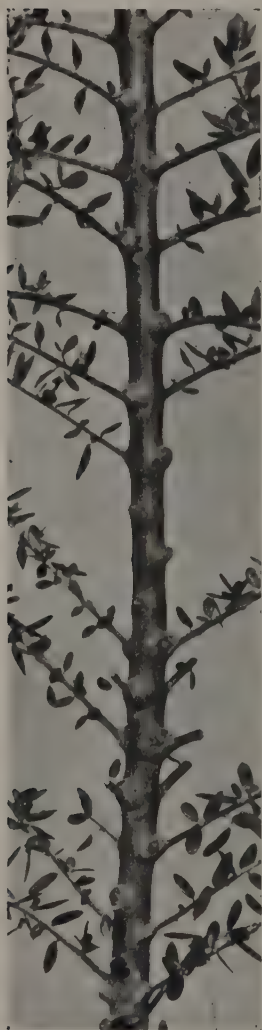


Fig. 7—Caule de uma planta de *Olea europaea* L., com 3 anos de idade, mostrando 20 andares de mamilos (aprox.te 1/4)

Na *Phillyrea media* L., as excrescências gemárias, ainda que menos freqüentes e características, evoluem por forma análoga àquela que é normal na *Olea europaea* L., e, se bem que possam desenvolver-se em dois ou três nós consecutivos, numa disposição oposto-cruzada, como observámos, normalmente só se tornam bem marcadas num dos nós da base do tronco, e quási sempre apenas do lado em que é maior a actividade cambial. Na fig. 11, apresentam-se os esquemas das secções feitas no tronco representado no lado direito da fig. 9: a primeira secção, 25 cm. acima da exostose; a segunda e terceira, correspondentes aos traços *a* e *b* da fig. 10, afastadas entre si de 5 mm., junto da inserção de um ramo que secou; a quarta, 5 centímetros acima do nível médio da exostose, cuja secção (realizada segundo o traço *a*, fig. 9), se representa no esquema 5 da fig. 11; e a sexta, 5 centímetros abaixo dêsse nível. Nestes esquemas observa-se uma bem marcada excentricidade já na formação do segundo ano, e verifica-se que é dêsse lado do caule, onde há maior intensidade de crescimento, que no terceiro ano se desenha com nitidez o início da exostose, a qual se acentua gra-

dualmente nos anos seguintes, conforme a excentricidade vai aumentando ao longo de todo o ramo.

Deve notar-se que, apresentando êste lado um maior desenvolvimento pela mais forte actividade do seu câmbio, o exame exterior do ramo poderá fazer julgar que a actividade mais intensa corresponde ao sector oposto, menos desenvolvido mas sobressaliente do conjunto.

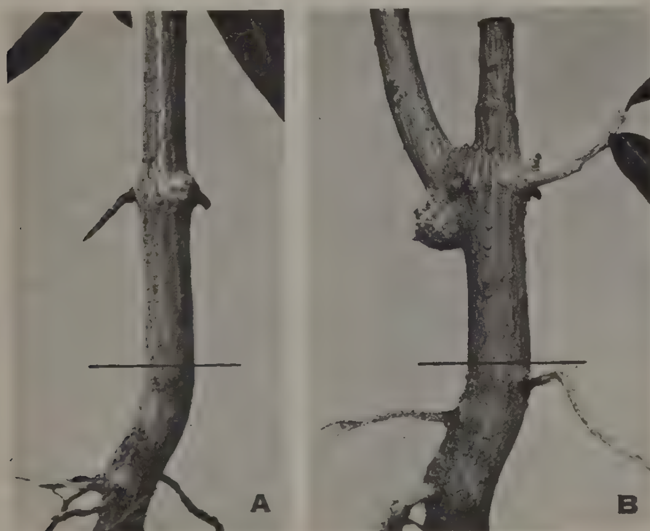


Fig. 8 — Evolução de um mamilo acompanhada de desenvolvimento de ramo, numa planta de *Olea europaea* L., após o corte do caule 2 cm. acima do primeiro nó (aprox.te tamanho natural)

No género *Viburnum*, a ontogenia das excrescências gemárias é um tanto diversa, por virtude, segundo cremos, da diferente organização estrutural. Os primeiros gomos adventícios situam-se abaixo e aos lados da inserção foliar, freqüentemente um de cada lado, distribuindo-se os seguintes, sobretudo, entre êsses dois, mas chegando muitas vezes a envolver completamente o ramo, por um processo de evolução análogo ao dos cones radicíferos da *Cydonia oblonga* Mill., ou das excrescências gemárias da *Cercis Siliquastrum* L., por exemplo.

Ao contrário do que sucede na *O. europaea* L., muitos dêsses

gomos evoluem, originando ramos que apresentam notável tendência para radicar, pois é muito freqüente tocarem o solo e emitirem raízes à semelhança dos estolhos, facto que as suas condições de vegetação em taludes de estradas e valados muito facilitam.

* * *

Com o fim de verificarmos quais os tecidos do caule que interessam ao desenvolvimento das excrescências gemárias da oliveira



Fig. 9 - Excrescências gemárias na base do caule de *Phillyrea media* L. (aprox.te tamanho natural)

e quais as transformações por que sucessivamente vão passando, fizemos, como se disse, o estudo anatómico do sistema vascular do ramo, especialmente na região do nó, acompanhando a sua evolução desde a estrutura primária até fases adiantadas do desenvolvimento dos mamilos.

Na fig. 12, mostramos a seriação, de baixo para cima, e na mesma posição relativa, dos esquemas de secções microtómicas, entre três nós consecutivos, realizadas na parte terminal de um ramo em crescimento, e que se encontram documentadas fotogràficamente, em maior ampliação, na Est. I. A linha a traço mais cheio representa, conjuntamente, o protofluema e o protoxilema;

os dois pequenos círculos que a interrompem indicam as diferentes posições que os elementos líbero-lenhosos de um feixe foliar ocupam nas diversas secções.

Assim, no primeiro esquema, relativo ao nó inferior, vemos que êsses elementos se encontram situados na parte posterior do feixe da fôlha (zona tracejada) que se insere, do mesmo lado, nesse nó, interpondo-se entre êles e o feixe já individualizado duas pequenas porções de procâmbio (Est. I-A). No esquema seguinte, correspondente ao início da inflexão do feixe foliar, os dois ramos do procâmbio ocupam maior extensão e apresentam-se ligeiramente encurvados (Est. I-B), tornando-se tal curvatura mais pronunciada no terceiro esquema, ao mesmo tempo que perdem ligação com o feixe foliar, que se afasta (Est. I-C). Em secções superiores, os dois ramos estabelecem contacto entre si (estão bastante próximos na Est. I-D e esq. 4) e seccionam-se depois para formar o cilindro procambial do gomo axilar. As duas porções de procâmbio que acompanham o cilindro central do ramo (esq. 5 e Est. I-E) aproximam-se, unem-se, e vão diminuindo em extensão (esq. 6 e 7 e Est. I-F e G) até desaparecem por completo, quando o novo feixe foliar se individualiza (esq. 8 e 9 e Est. I-H e I).

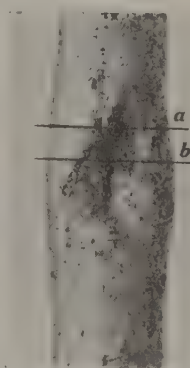


Fig. 10 — Inserção de um ramo que secou, num caule de *Phillyrea media* L. (tamanho natural)

Vemos assim que um feixe foliar, na espécie considerada, é constituído pela justaposição de dois grupos de elementos líbero-lenhosos, perfeitamente distintos, que se afastam gradualmente um do outro, conforme consideramos níveis descendentes, e contornam o sistema vascular do gomo subjacente, bem como o feixe da fôlha que lhe corresponde.

Devemos notar ainda a posição relativa dêsses dois grupos de elementos líbero-lenhosos à altura do nó intermédio (esq. 7 e Est. I-G) e o aparecimento muito freqüente, do promeristema de um gomo adventício atrás do gomo axilar normal (esq. 5 e Est. I-E).

A subdivisão do feixe foliar está ainda representada numa seriação de esquemas (fig. 13), agora em sentido descendente, das

secções entre três nós consecutivos de um caule na sua estrutura secundária: a linha mais externa indica a epiderme; a seguinte, contorna os tecidos liberinos, e, a terceira, representa a linha do

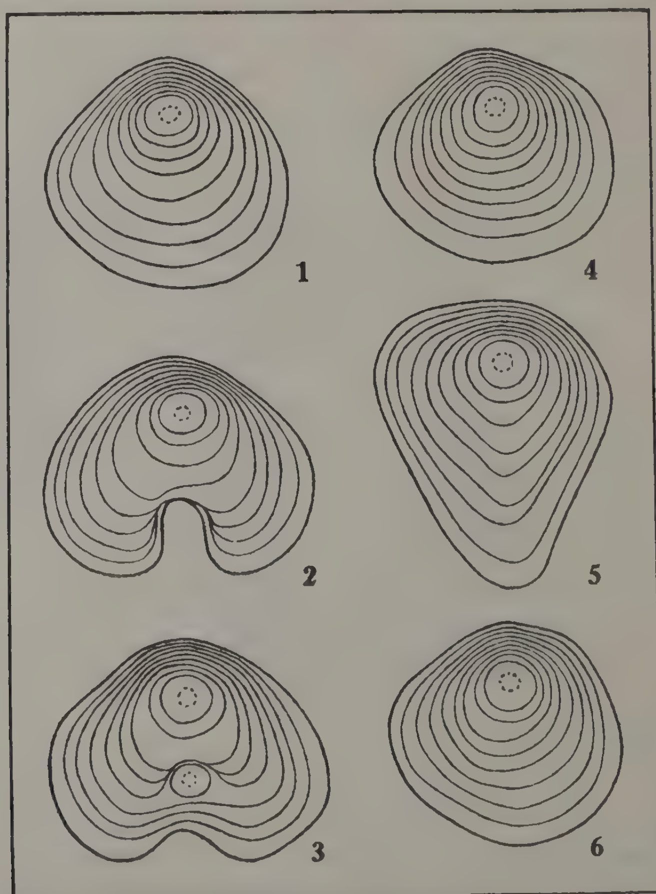


Fig. 11 — Esquema de secções transversais realizadas num caule de *Phillyrea media* L. em cuja base existia uma exostose no lado de crescimento mais activo (aprox.te 2 ×)

câmbio. Os elementos lenhosos pertencentes a um mesmo feixe foliar, que nós identificámos lâmina a lâmina, estão representados a tracejado.

Aos esquemas 1, 2 e 5 correspondem, respectivamente, na zona

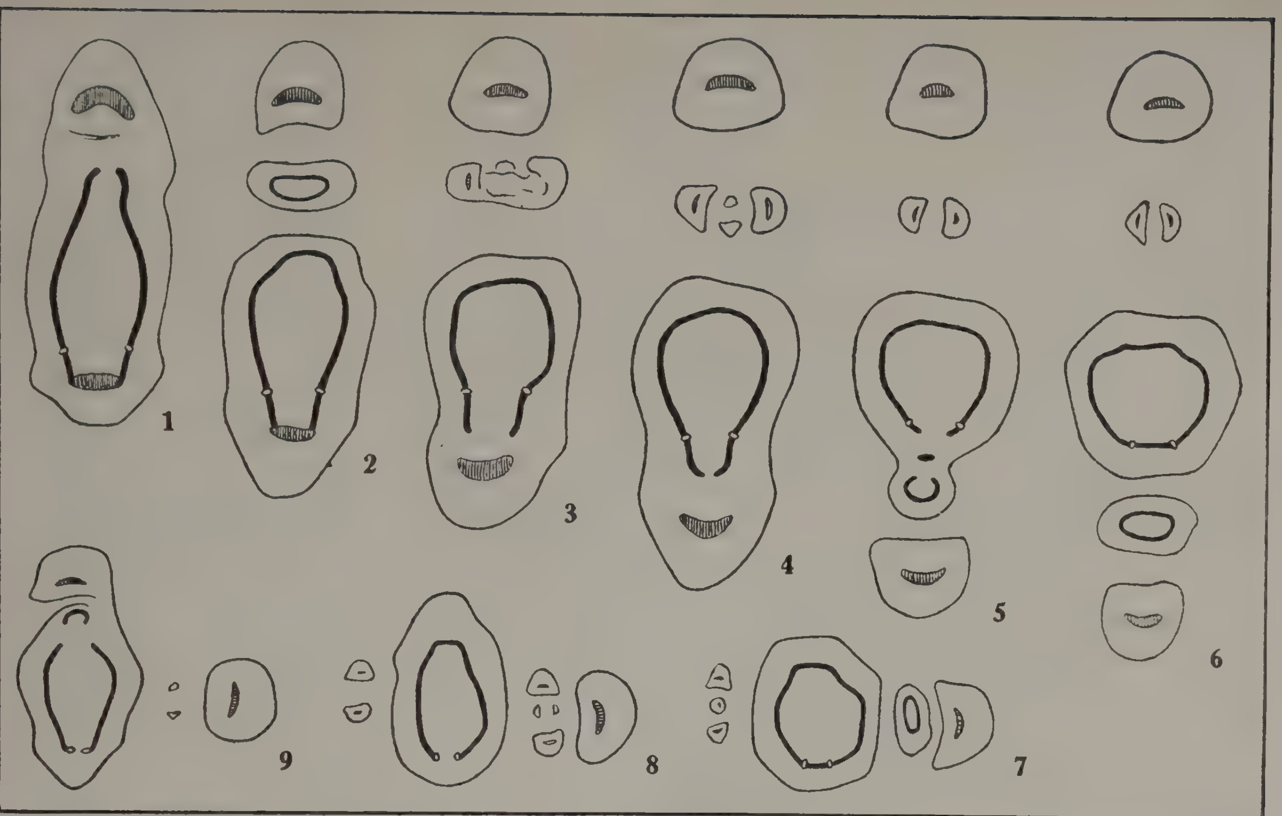


Fig. 12 — Seriação dos esquemas de secções microtómicas transversais realizadas, de baixo para cima, entre três nós consecutivos, na parte terminal de um ramo, de *Olea europaea* L., em crescimento (20 ×)

do feixe considerado, as microfotografias C, D e E da Est. V; e a microfotografia de conjunto que apresentamos na Est. II-B corresponde a uma secção intermédia das representadas nos esquemas 3 e 4.

O sistema vascular do caule de *O. europaea* L., em especial na região do nó, apresenta, desde início, uma grande heterogeneidade nos diversos tecidos que o constituem, principalmente naqueles que formam o hadroma.

Assim, na secção transversal de um caule nas primeiras fases da estrutura secundária (Est. II-B) encontramos o xilema dividido em sectores, de aspecto, constituïção e espessura diferentes, em correspondência directa com a nervação foliar. Os dois sectores correspondentes aos feixes diametralmente opostos (à esquerda e à direita da gravura), das duas fôlhas inseridas nesse nó, e, ortogonalmente, os dois sectores bipartidos que estabelecem ligação com as duas fôlhas do nó superior possuem vasos largos e tem maior espessura. Pelo contrário, os sectores que com aqueles alternam são, nesta fase, desprovidos de traqueias, quási só constituídos por fibras, e de reduzida espessura. A êstes últimos corresponde maior desenvolvimento de floema, maior densidade de fibras pericíclicas e, no córtex, ao nível considerado, uma quantidade maior de tecidos colenquimatosos.

Posteriormente, notam-se bem marcadas diferenças de lenhificação no sistema vascular do caule (Est. II-A). O lado mais exposto à luz (parte superior da estampa) é consideràvelmente mais lenhificado do que o lado da menor iluminação, motivo porque nêle se tornam mais aparentes as diferenças sectoriais do sistema vascular.

Os sectores que apresentam vasos de maior diâmetro e uma lenhificação menos acentuada são aquêles que correspondem aos dois ramos fasciculares de cada uma das fôlhas que se inserem no segundo nó acima da secção em estudo, isto é, das duas fôlhas superiormente homótropas com aquelas pertencentes ao nó considerado. Nesses quatro sectores observa-se também uma espessura muito maior de tecidos liberinos.

Às dissemelhanças estruturais correspondem capacidades diferentes de multiplicação celular; por êsse facto alguns dos sectores considerados contribuem mais do que outros para o engrossamento do ramo, o que se torna bem patente, na parte externa, quando

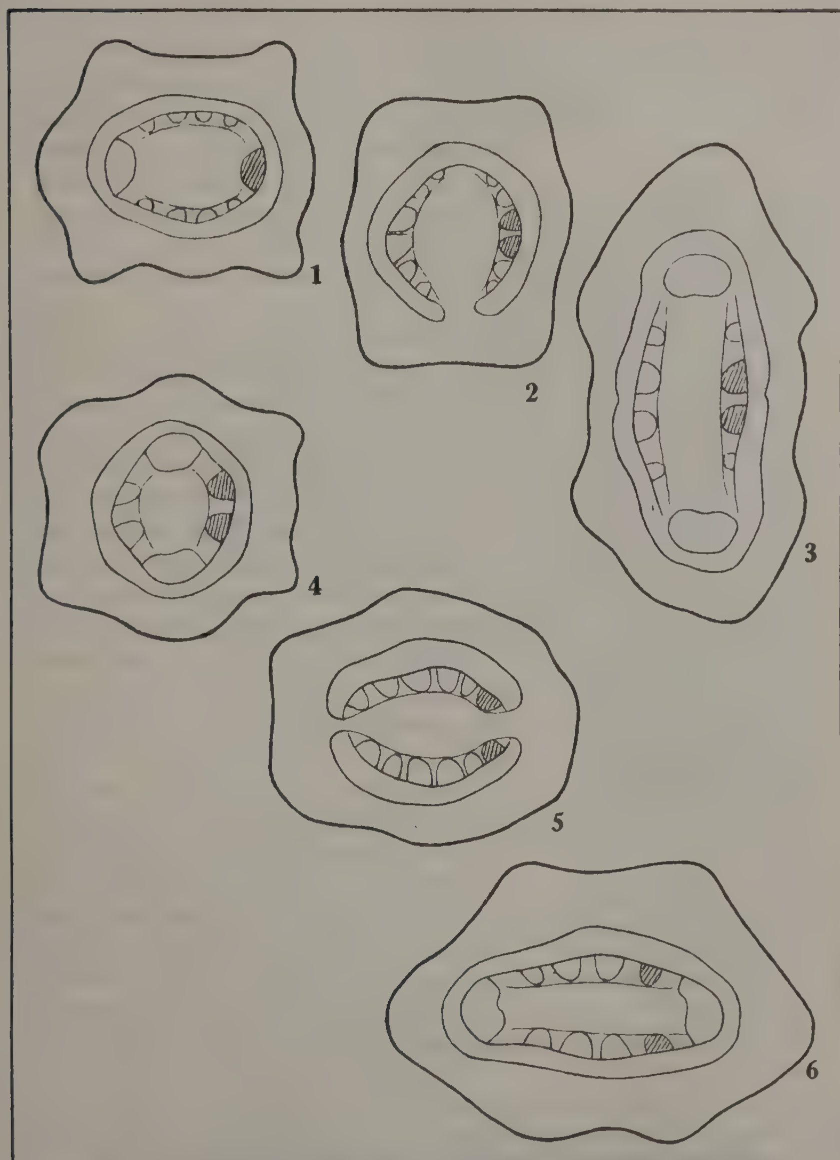


Fig. 13 — Seriação dos esquemas de secções microtómicas transversais realizadas, no sentido descendente, entre três nós consecutivos de um ramo de *Olea europaea* L. em estrutura secundária (30 ×)

comparamos (fig. 14-A e B) as disposições das lentículas nos ramos delgados com aquelas que ocupam depois de um certo engrossamento. As lentículas dispõem-se em geral segundo fiadas, ao longo e do lado interno das bandas colenquimatosas correspondentes a cada fôlha. E, à medida que o ramo se desenvolve, elas vão ficando, em cada entre-nó, proporcionalmente cada vez mais afastadas do gomo inferior (fig. 14-B), pois os tecidos que envolvem o gomo pela sua parte superior — tecidos onde o mamilo se origina — são aquêles que apresentam crescimento mais intenso.

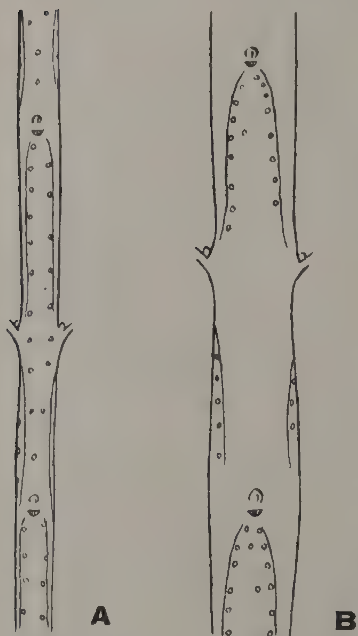


Fig. 14 — Esquema da distribuïção das lentículas (*Olea europaea* L.):
A — Num ramo novo
B — Após considerável engrossamento
(aprox.te tamanho natural)

O maior desenvolvimento que se manifesta em determinadas regiões pode tornar-se ainda mais aparente pela evolução de um ramo, por exemplo, como observámos num caule de aderno (fig. 11). Assim, no esquema 3, da referida figura, vemos que a linha de crescimento correspondente ao terceiro ano se torna côncava quando contorna interiormente o novo ramo, o mesmo sucedendo às linhas de crescimento do quarto e quinto anos, que mostram cavidades ainda mais pronunciadas. Na secção superior (esq. 2), as concavidades das linhas de crescimento manifestam-se a partir da que é representativa do quinto ano, acentuando-se sucessivamente naquelas dos anos seguintes.

Além das marcadas diferenças sectoriais que apresenta, na região do nó, a composição dos tecidos vasculares, as fendas do cilindro central correspondentes aos feixes da fôlha e gomo (fig. 12-3, 4, 5 e 9; fig. 13-2 e 5; Est. I-D e E; e Est. V-E), bastante contribuem para o desigual crescimento do ramo e para a

diferente constituïção dos novos tecidos formados nos vários sectores. Assim, por exemplo, na Est. III - C, o xilema diferenciado em frente de uma larga fenda do cilindro central é constituído exclusivamente por parênquima lenhoso, em contraste com aquêle formado lateralmente, de aspecto bastante compacto pela grande abundância de fibras.

A definição de nó *(nodus)*, tal como foi apresentada por BENEVIDES (1841, pág. 319) — «Protuberancia mais ou menos saliente produzida pelo encruzamento de fibras, e da tumefacção do tecido cellular» — não pode ser aplicada sem restrições à *O. europaea* L., por isso que nesta espécie ainda que existam, lateralmente, na região nodal, duas zonas de acentuada lenhificação, o encruzamento de fibras não se verifica e a tumefacção do tecido celular restringe-se a dois sectores opostos, em íntima ligação com a nervação foliar e com as fendas do cilindro central — *gaps* da fôlha e do ramo. Externamente, podemos verificar êsse facto observando o pequeno fendilhamento dos tecidos corticais nos sectores laterais do nó, em contraste com aquêle bastante acentuado que se nota junto dos ramos, sobretudo na parte superior (fig. 6).



Fig. 15 — Caule de *Olea europaea* L. que, depois de ter sido enterrado, emitiu raízes sôbre os mamilos e em outros pontos onde existiam lentículas (aprox.te tamanho natural)

A disposição oposto-cruzada das fôlhas e ramos, mantida nesta espécie com bastante rigidez (fig. 5), e a organização sectorial do seu sistema vascular, facilitam o afluxo de seiva a essas regiões de manifesta tendência, desde bastante cedo (fig. 12-5 e Est. I - E), para a diferenciação de gomos. Originam-se assim grandes excrescências em que abundam os gomos adventícios, alguns de formação interna (Est. V - B), outros externos, ou nìtidamente recobertos, como se pode observar na Est. V - A. Nesta microfotografia, as partes mais negras, subjacentes a uma delgada camada

de tecidos corticais, são fragmentos de pêlos bastante corados pela safranina.

Uma secção microtómica realizada na parte média de um mamilo bastante desenvolvido (Est. IV) torna bem evidente as diferenças entre os tecidos que o constituem e aquêles da região nodal estranhos ao desenvolvimento da exostose. Nos primeiros, as camadas anuais de xilema, a partir do segundo ano, apresentam uma grande espessura (esq. A), pequena lenhificação, e são predominantemente constituídas por parênquima lenhoso (microf. C); o líber e o córtex mostram-se pouco desenvolvidos, quási desprovidos de fibras, e a camada suberosa de reduzida espessura (microf. D); pelo contrário, como podemos observar na Est. IV - A e B, as camadas anuais de hadroma, nas outras regiões do nó, têm pequena espessura, e aspecto compacto pela grande percentagem de fibras; o líber e o córtex são muito desenvolvidos, com bastantes fibras esclerenquimatosas, por vezes em assentadas de grande extensão; a camada de súber apresenta também nestas regiões uma grande espessura. Quando os grupos de fibras liberinas são interceptados pelos raios medulares, as células dêstes situadas entre as fibras sofrem um processo de lenhificação (Est. V - F).

Mas, além da tendência que as zonas nodais manifestam para a diferenciação de gomos, também é nelas que preferentemente se diferenciam raízes, quando as condições externas se tornam favoráveis. Na Est. III - A e B, apresentam-se duas microfotografias de secções transversais, à altura do nó, de caules novos de oliveiras em que se tinha verificado o desenvolvimento de raízes na ausência de exostoses; por elas vemos que as diferenciações se manifestaram bastante cedo, em frente de raios medulares largos, na vizinhança de uma fenda do cilindro central, zona dêsse cilindro, menos lenhificada na altura da diferenciação.

A existência de melhores ligações com a medula e o naturalmente maior afluxo de reservas, que aí se verificam, muito devem favorecer a diferenciação radicular.

Contudo, as referidas regiões não constituem as únicas zonas caulinares onde é possível diferenciarem-se raízes; outros pontos de localização se nos deparam, embora com muito menor freqüência, tal como sejam os correspondentes ao plano perpendicular ao das fôlhas opostas. Mas também, aquelas das raízes que se encon-

tram nesse plano correspondem geralmente a raios medulares mais desenvolvidos, situados na zona de bipartição dos elementos líbero--lenhosos pertencentes a um feixe foliar do nó superior.

Tôdas as raízes que se observaram nos caules novos mostravam ter-se diferenciado bastante cedo, num estado de muito reduzida lenhificação, aspecto êsse apresentado na Est. II-B, ao passo que a fase de evolução representada em A, na mesma estampa, com a zona vascular já consideràvelmente lenhificada, é pouco própria para a diferenciação radicular.

Depois de acentuada a lenhificação dos caules, é ainda por uma razão de ordem anatómico-fisiológica que as raízes se originam principalmente sôbre os mamilos constituídos. A natureza do lenho, o qual então apresenta grande abundância de parênquima e pequena percentagem de fibras, menor lenhificação dos raios medulares, e maior tendência das fiadas radiais de células para divergirem umas das outras; a reduzida espessura do córtex, etc. (Est. IV), são indício de condições favoráveis para tal diferenciação ([1]).

No entanto, quando se colocam na terra, em boas condições de umidade, caules possuindo mamilos ainda que já bem desenvolvidos, a produção de raízes tem lugar não apenas sôbre os mamilos, mas ao longo do ramo, em locais onde existiam lentículas. Foi o que observámos com material que mantivemos abacelado e que, passado tempo, mostrava numerosas raízes irrompendo através das lentículas (fig. 15).

Êste facto já se não verifica em ramos mais velhos, nos quais a diferenciação das raízes tem lugar apenas nos mamilos ou, quando muito, também sôbre *cordas* de actividade cambial muito intensa.

SUMÁRIO E CONCLUSÕES

Das Angiospérmicas expontâneas ou cultivadas existentes no nosso País cujas condições de vegetação e estruturais mais se assemelham às do género *Olea*, há a considerar as plantas per-

([1]) RODRIGUES (1942) mostrou algumas particularidades da estrutura anatómica e da actividade fisiológica de determinadas regiões dos sarmentos de videira aparentemente relacionadas com a diferenciação radicular. Entre outras, referiu a existência de raios medulares bastante largos, xilema menos lenhificado, grande dispersão das fibras liberinas e maiores quantidades de substâncias de reserva.

tencentes aos géneros *Phillyrea* e *Buxus*, e, num grau mais afastado, *Viburnum*, tôdas com fôlhas persistentes e disposição oposta, possuindo os dois primeiros géneros um único feixe foliar, como a oliveira, e o último três feixes. Na família das Oleáceas, além do género *Ligustrum*, com o *L. vulgare* L., que é de fôlhas caducas, outros deviam ser considerados, tais como *Osmanthus*, do qual algumas espécies se confundem com outras do género *Olea*; e *Forestiera*, pelas analogias que o seu lenho apresenta com o da oliveira. Convém ainda estudar outras espécies do género *Olea* não existentes no nosso País.

No *Buxus sempervirens* só raramente se observaram excrescências no tronco, notando-se, porém, sôbre os ramos novos, na maior parte das formas desta espécie, intensa produção de raízes, as quais são recobertas por extensa camada suberosa, e não atingem, nas condições normais, grande desenvolvimento.

Embora haja muita semelhança, quanto à estrutura anatómica, entre os géneros *Buxus* e *Olea*, o aspecto dos ramos apresenta acentuadas diferenças; na *Olea europaea* L., especialmente na variedade *Oleaster*, os novos lançamentos e as fôlhas mostram-se muito mais consistentes do que no *Buxus sempervirens* L., determinando uma rígida disposição oposto-cruzada das fôlhas, e, posteriormente, dos novos ramos desenvolvidos, se bem que o grau de dureza atingido pela madeira, nas duas plantas, se considere idêntico.

Na *Phillyrea media* L., as excrescências gemárias são muito menos freqüentes e características que na oliveira, mas apresentam uma evolução semelhante, com tendência para se originarem apenas num dos nós da base do tronco, no lado de crescimento mais intenso, que equivale a uma *corda*, pela maior actividade cambial.

No género *Viburnum*, cuja organização estrutural dos ramos já se afasta mais do género *Olea*, as excrescências gemárias começam pelo aparecimento de gomos adventícios por baixo da inserção da fôlha, em geral um de cada lado, mas podendo o seu número aumentar a ponto de envolver completamente o ramo, numa evolução semelhante à dos cones radicíferos da *Cydonia oblonga* Mill., ou das excrescências gemárias da *Cercis Siliquastrum* L..

A observação anatómica do sistema vascular dos ramos de *Olea europaea* L., desde a sua estrutura primária, mostra que os elementos líbero-lenhosos de um feixe foliar começam por consti-

tuir, ao nível da fôlha homótropa inferior, dois grupos distintos, um de cada lado do feixe que a ela corresponde e do qual se encontram separados por duas porções de procâmbio. Na zona em que se inicia a inflexão do feixe foliar, essas porções de procâmbio perdem a ligação com êle e estabelecem contacto entre si, dividindo-se depois em duas partes: a anterior, vai formar o cilindro procambial do gomo; a outra, constituída por dois ramos, um de cada lado, que se unem, prossegue no cilindro central, e diminui gradualmente em extensão até desaparecer por completo, quando o novo feixe, resultante da justaposição dos dois grupos referidos, se individualiza.

A divisão sectorial do cilindro vascular é principalmente acentuada ao nível do nó, onde existe maior dissemelhança na composição e espessura dos diversos tecidos. Os sectores relativos aos dois feixes foliares do nó considerado, bem como os dois sectores bipartidos e ortogonais dêsses, correspondentes às fôlhas do nó imediatamente superior, possuem maior espessura de tecidos e apresentam vasos mais largos, em relação às zonas intercalares, que têm elevada proporção de fibras. Numa fase evolutiva mais adeantada, os quatro sectores que correspondem às duas fôlhas homótropas daquelas inseridas no nó considerado apresentam menor lenhificação e maior espessura de tecidos liberinos. Tal facto, e a presença das fendas do cilindro central inerentes aos feixes da fôlha e do gomo, tornam maior nessas zonas a capacidade de multiplicação celular, motivo porque elas contribuem em maior escala para o engrossamento do ramo. Externamente, as diferenças na potencialidade do crescimento mostram-se bem patentes pelo aspecto que vai apresentando, com a idade, a distribuïção das lentículas.

As particularidades anatómicas apontadas e o grande afluxo de seiva que o arranjo sectorial do sistema vascular, com uma disposição oposto-cruzada das fôlhas, asseguram, tornam estas regiões muito aptas para a diferenciação de gomos adventícios e formação dos intumescimentos.

Os tecidos dos mamilos originados continuam a manter fraca lenhificação; as camadas anuais de lenho apresentam grande espessura e são principalmente constituídas por parênquima lenhoso; o líber e o córtex mostram-se consideràvelmente reduzidos, e existe

fraca percentagem de fibras esclerenquimatosas, bem como pequena camada suberosa.

As mesmas razões que determinam um maior crescimento, e produção de gomos adventícios e exostoses nas zonas do nó correspondentes às fôlhas, favorecem também a diferenciação de raízes, quando as condições ambientes se tornam favoráveis. Nos caules novos, elas originam-se quási sempre na região nodal, em raios medulares mais desenvolvidos junto das fendas do cilindro vascular. Algumas vezes, surgem no plano perpendicular ao das fôlhas opostas, sôbre raios medulares situados entre os dois grupos de elementos líbero-lenhosos que pertencem ao feixe da fôlha superior.

A diferenciação de raízes nos caules já mais desenvolvidos e lenhificados, abacelados na terra, em boas condições de umidade, teve lugar nos mamilos constituídos, e ao longo do ramo, em pontos onde existiam lentículas. Porém, quando se trata de ramos mais idosos, os tecidos já não possuem aptidão para diferenciar raízes, e estas só se originam sôbre os mamilos, ou sôbre *cordas* de intensa actividade cambial.

SUMMARY

The present study deals with research work carried on the primary and secondary structures of branches of *Olea europaea* L. in order to interpret the occurrence of swellings and of roots on the stems.

At the level of the foliar node, the vascular cylinder shows its sectorial division more marked, and greater differences in composition and thickness of the tissues. The sectors corresponding to the two foliar bundles of that node, and its two orthogonal and bipartite sectors, corresponding to the leaves of the next upper node, show thicker tissues and wider vessels, whereas the zones lying nearby have a great amount of fibres.

In a more developed stage, the four sectors corresponding to the two homotropous leaves of those of the already mentioned node, show lesser linhification and a thicker phloem. This, together with the existence of «gaps» in the central cylinder corresponding to the foliar and bud bundles, greatly increase in that region the capability for cellular multiplication, thus contributing to

the growth in thickness of the branch. Externally the differences in the degree of intensity of growth become evident by the distribution of the lenticels.

The opposite leaf-arrangement with its proper anatomical features, and the great stream of sap made possible through the sectorial type of the vascular system, render these zones very able for the differentiation of adventitious buds and for the formation of swellings.

The tissues of the excrescences still show a low degree of linhification, with annual wood layers very thick and mainly formed by wood parenchyma; the phloem and the cortex are very reduced and show a low amount of sclerenchymatous fibres; and a thin cork-layer is present.

The same reasons which lead to a greater growth and production of adventitious buds and *exostoses* at the nodes close to the leaves, are also propitious to the differentiation of roots under favourable environmental conditions. In young stems the roots arise either almost always at the node, close to the foliar and branch *gaps* and from the cambium connected with the more developed medullary rays, or on a plan at right angles to that of the opposite leaves and from medullary rays between the two groups of vascular vessels belonging to the bundle of the upper leaf.

When woody stems are earthed up, under good conditions of humidity, roots arise from the excrescences and also through the lenticels along the branch. In older branches with unsuitable tissues, the differentiation of roots takes place only in the excrescences or on cord-like productions of intensive cambial activity.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, F. J. DE

1942 Organogenia das formações radicíferas da oliveira *Olea europaea* L. *Agron. Lusitana* **4** (1): 31-59.

BAILEY, L. H.

1941 *The standard cyclopedia of horticulture.* The Macmillan C.º New York.

BENEVIDES, A. A. F.

1841 *Diccionario de glossologia botanica ou descripção dos termos technicos.* Typ. Ac. Real das Sciencias. Lisboa.

CAMARA, M. S. DA

1902 Estudo da Oliveira. *Bol. Dir. G. Agric.* **7** (6): 527-751.

COUTINHO, A. X. P.
1936 Esbôço de uma flora lenhosa portuguesa. *Pub. Dir. G. Ser. Flor. e Aqüic.* **3** (1): 1-368.

MATHIEU, A.
1877 *Flore forestière.* Berger-Levrault et C.ie Paris. Nicolas Grosjean. Nancy.

NATIVIDADE, J. V.
1940 Sôbre a existência de raízes aéreas latentes na oliveira (*Olea europaea* L.) e os novos aspectos do problema da propagação vegetativa. *Agron. Lusitana* **2** (1): 25-73.
1941 O significado ecológico e fisiológico do sistema radicular aéreo da oliveira (*Olea europaea* L.) e da alfarrobeira (*Ceratonia siliqua* L.). *Agron. Lusitana* **3** (2): 85-91.

RODRIGUES, A.
1942 Raízes aéreas na *Vitis vinifera* L. *Agron. Lusitana* **4** (1): 5-30.

SAX, K. and ABBE, E. C.
1932 Chromosome numbers and the anatomy of the secondary xylem in the Oleaceae. *Journ. Arnold Arboretum* **13**: 37-48.

STONE, H.
1924 *The timbers of commerce and their identification.* William Rider & Son, Ltd. London.

WIESNER, J. VON
1928 *Die Rohstoffe des Pflanzenreichs vierte auflage.* Wilhelm Engelmann. Leipzig.

LEGENDAS DAS GRAVURAS

(*Olea europaea* L.)

ESTAMPA I — Seriação de secções transversais entre três nós consecutivos na parte terminal de um ramo, abrangendo a zona vascular correspondente a duas fôlhas homótropas (80 ×).

ESTAMPA II — Secções tranversais de caules, na região do nó:

A — mostrando as diferenças de lenhificação entre as faces mais iluminada (parte superior) e menos iluminada do caule (35 ×).

B — no início da estrutura secundária (65 ×).

ESTAMPA III — Secções transversais de caules, em regiões nodais, antes de haver desenvolvimento de exostoses:

A — mostrando uma raiz diferenciada junto do *gap* de um gomo (32 ×).

B — mostrando a boa ligação entre uma raiz diferenciada e a medula (65 ×).

C — parênquima lenhoso diferenciado em frente de uma larga fenda do cilindro central (65 ×).

ESTAMPA IV — Particularidades da secção transversal ao nível mediano de uma exostose:

A — Representação esquemática da excrescência (4 ×).

B — Faixa de tecidos lenhosos, liberinos e corticais na zona não abrangida pela exostose (60 ×).

C — Zona lenhosa na parte mais saliente da excrescência (60 ×),

D — Zona periférica, na parte saliente (60 ×).

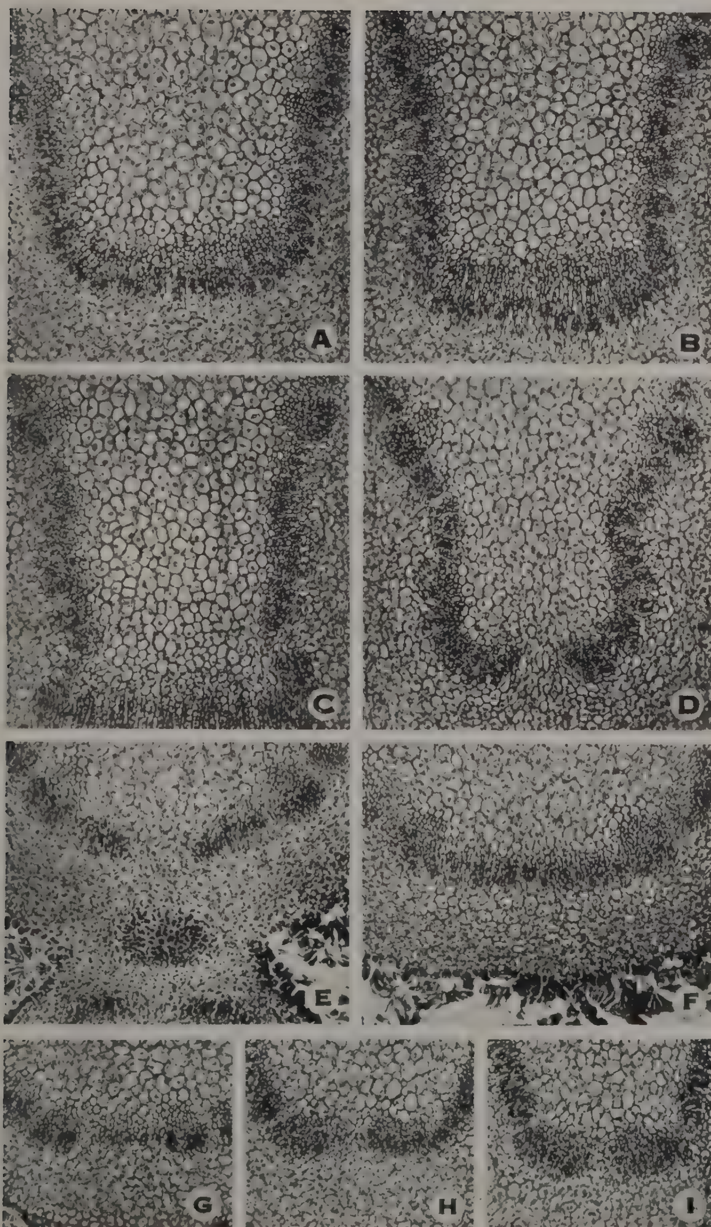
ESTAMPA V

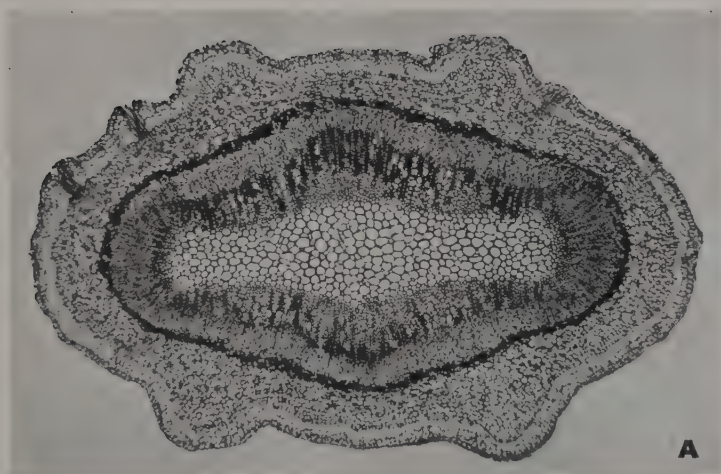
A — Gomo recoberto, na parte saliente de uma exostose (60 ×).

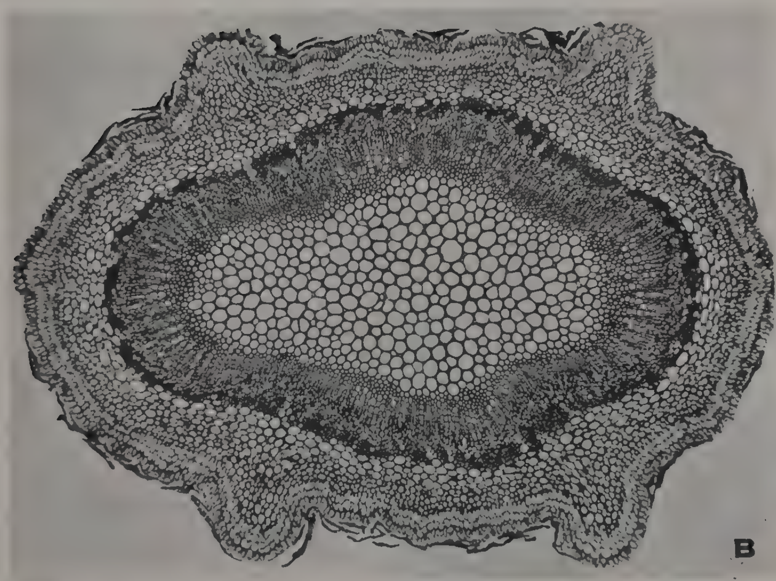
B — Gomo diferenciado mais profundamente (60 ×).

C, D e E — Secções transversais dos elementos líbero-lenhosos de um feixe foliar, em três níveis descendentes (140 ×).

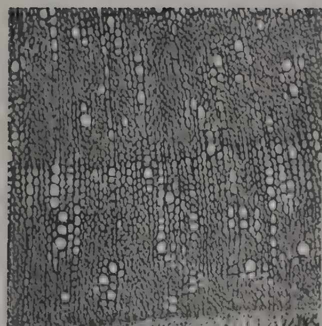
F — Grupo de fibras liberinas (140 ×).

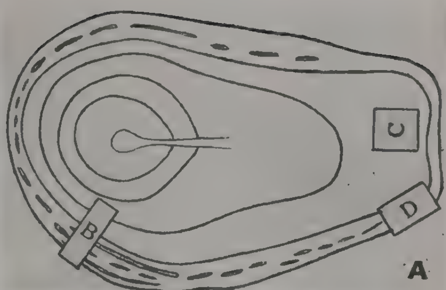

A
B
C
D
E
F
G
H
I


A

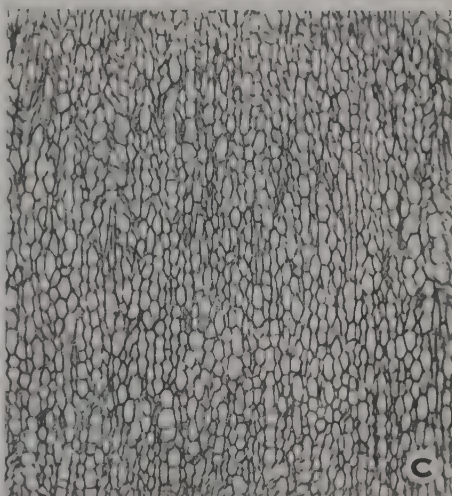

B

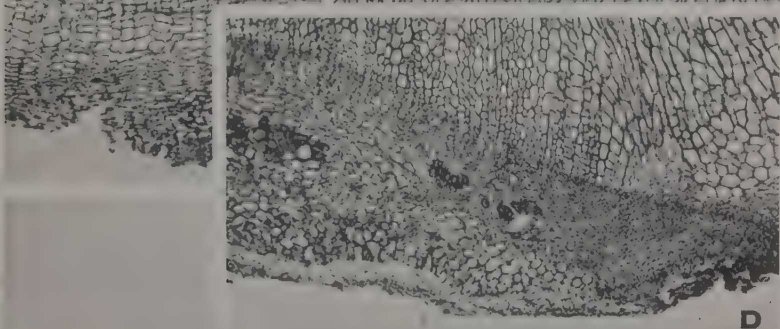

A
B
C

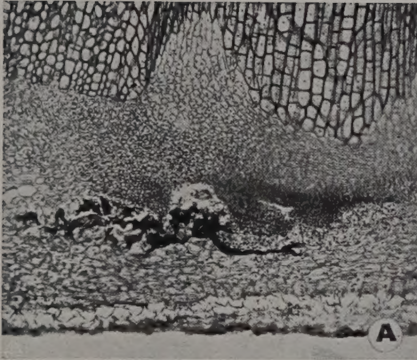


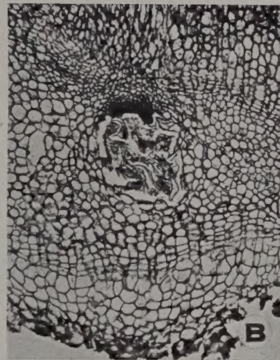

C
B
D
A

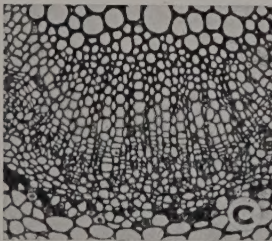

B

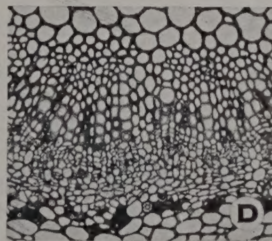

C

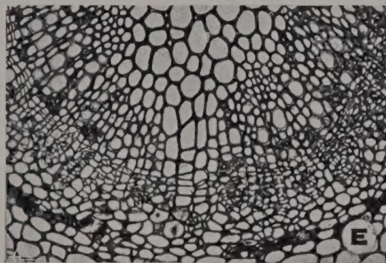

D

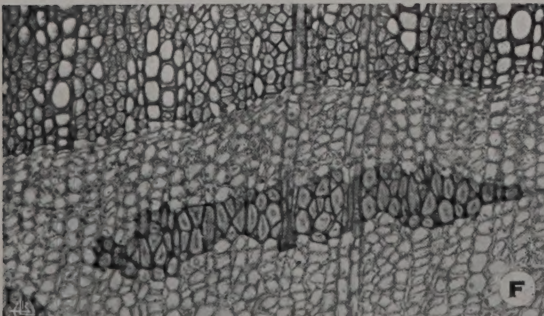

A


B


C


D


E


F

Volume IV — Tomo III

ÍNDICE